Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. W. Dick

Über die Möglichkeit der Erfassung irregulärer Antikörper im Bereich des Kell/Cellano- und des S/s-Systems. Vergleichende Untersuchungen zwischen dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test und dem Anti-Human-γ-Globulin-Test (indirekter Coombs-Test)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ulrike Jung
aus Münsingen

1969

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. W. Dick

Über die Möglichkeit der Erfassung irregulärer Antikörper im Bereich des Kell/Cellano- und des S/s-Systems. Vergleichende Untersuchungen zwischen dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test und dem Anti-Human-γ-Globulin-Test (indirekter Coombs-Test)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ulrike Jung
aus Münsingen

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. med. Johannes Hirschmann

1. Berichterstatter: Dozent Dr. med. Werther Schneider
2. Berichterstatter: Professor Dr. med. Walter Dick

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Meiner Mutter

in Dankbarkeit

An dieser Stelle danke ich

Herrn Professor Dr. med. W. Dick für die Erlaubnis, an seiner Klinik arbeiten zu dürfen,

Herrn Dozent Dr. med. W. Schneider für die Themastellung, seine Unterstützung und sein Interesse am Fortgang der Arbeit und für die Übernahme des Referates,

allen Mitarbeitern von Herrn Dozent Dr. med. W. Schneider für ihre Hilfe im Labor.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547612_0080

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Das Kell/Cellano-System	2
III.	Das S/s-System und seine Beziehung zu M und N	3
IV.	Blutgruppenantigene und -antikörper und die Antigen-Antikörper-Reaktion	5
V.	Technik der Hochprotein-Slide-Kreuzprobe und ihre Modifikation nach W. Schneider	8
VI.	Technik des Anti-Human-γ-Globulin-Tests	10
VII.	Fragestellung	11
VIII.	Methodik	13
IX.	Untersuchungsergebnisse	15
	a) Kell/Cellano-System	15
	b) S/s-System	17
X.	Tabellarischer Anhang	21
XI.	Zusammenfassung und Diskussion	51
XII.	Literaturverzeichnis	54

I. EINLEITUNG

Mit der Entdeckung des Rh-Systems 1939/40 durch Landsteiner und Wiener (1/2) und seiner Bedeutung für den M. haemolyticus neonatorum und auch für Transfusionsreaktionen erwachte ein erneutes Interesse an den Blutgruppeneigenschaften und ihrer Erforschung. Dadurch kam es in den folgenden Jahren zu immer neuen Entdeckungen, so daß bis heute nicht weniger als 36 klinisch wichtige Antigene bekannt sind, die in 11 Systemen zusammengefaßt werden. Ein einzelnes rotes Blutkörperchen kann demnach bis zu 28 untereinander verschiedene Blutgruppeneigenschaften tragen, die in über 6 Mill. verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten vorkommen können (3).

Die Auffindung eines Blutgruppensystems geschieht auf ganz unterschiedliche Art und Weise. Einmal erfolgt der Nachweis eines neuen Antikörpers rein zufällig, etwa im Zusammenhang mit einer Erythroblastose eines Neugeborenen; oder aber man führt ihn herbei durch die vorsätzliche Immunisierung eines Tieres, das dann den fraglichen Antikörper bilden soll. Das wichtigste Beispiel für diese Methode ist das Rh-System (4). Eine weitere Möglichkeit für die Entdeckung eines neuen Systems ist die Entwicklung einer neuen Technik für den Antikörper-Nachweis. So wurde z.B. das Kell-System wenige Wochen nach der Ausarbeitung des Anti-Human-γ-Globulin-Tests entdeckt (5/6).

Die Häufigkeit der Blutgruppenantigene wechselt sehr stark. Ein Antigen kann so häufig sein, daß zunächst keine Spezifität festzustellen ist, wie beim k des Kell-Systems, das nur bei 5 von 2 500 untersuchten Blutproben negativ anzeigte. Andererseits kann ein Antigen auch extrem selten vorkommen, ja sogar auf eine Familie beschränkt sein (sog. private Antigene), wie beim Faktor Di^a (Diego), der bei 4 Mitgliedern einer Familie gefunden wurde, während 2 600 unausgewählte Blutproben negativ ausfielen (4).

Von der Häufigkeit der Antigene hängt, neben ihrer Fähigkeit, Wärmeantikörper zu bilden, ihre praktische Bedeutung bei haemolytischen Transfusionsreaktionen ab. Je weiter verbreitet ein Antigen ist, desto seltener tritt der ihm entsprechende Antikörper auf, ein Beispiel hierfür stellt das k-Antigen dar. Anders beim K-Antigen, das ja nur bei 10% der Bevölkerung nachgewiesen wurde; sein Antikörper ist sehr viel häufiger als Ursache sowohl für M. haemolyticus neonatorum als auch für Transfusionszwischenfälle verantwortlich zu machen.

II. DAS KELL/CELLANO-SYSTEM

Im Jahre 1946 fanden Coombs, Mourant und Race (6) bei einer Frau Kellacher, die ein Kind mit M. haemolyticus neonatorum geboren hatte, einen Antikörper, der sich in kein bisher bekanntes System einordnen ließ. Die Frau trug den Antikörper in inkompletter Form, und ganz offensichtlich war er die Ursache für die Erythroblastose, denn beim Ehemann wurde das Antigen gefunden. Kurze Zeit später entdeckten Wiener und Sonn-Gordon (7) bei einer Frau, die mehrfach Bluttransfusionen erhalten hatte, ebenfalls einen irregulären Antikörper, der sich dann mit dem von Coombs, Mourant und Race gefundenen als identisch erwies.

Nach Übereinkunft wurde das Antigen K (Kell) benannt.

In den darauffolgenden Jahren sind wiederholt Immunisierungen mit Kell-Antikörpern beschrieben worden. Zahlreiche Autoren fanden die Antikörper als Ursache von M. haemolyticus neonatorum; am meisten werden sie jedoch nach Bowley bei der Routineuntersuchung von Schwangeren gefunden. Auch durch Transfusionen hervorgerufene Antikörper wurden mehrfach beschrieben (8 - 19).

Die Eigenschaft Kell ist erblich und wurde bis jetzt nur an Blutzellen gefunden. Im Speichel und im Gewebe konnte sie nicht eindeutig nachgewiesen werden (20). Ein weiterer Antikörper wurde 1949 von Levine, Backer, Wigod und Ponder (21) im Serum einer Frau gefunden, deren Kind eine leichte Form einer haemolytischen Neugeborenenerkrankung aufwies. Dieser Antikörper konnte zunächst nirgends eingeordnet werden; man stellte jedoch fest, daß er nur in 5 von 2 500 Blutproben nicht angezeigt wurde. Die Zugehörigkeit zum Kell-System stellte sich erst später heraus, als man nämlich entdeckte, daß alle mit dem neuen Antikörper negativ angezeigten Fälle Kell-positiv waren.

Das neue Antigen erhielt als Symbol k (früher auch Cellano). Die beiden Eigenschaften K und k können kombiniert auftreten, also Kk im Genotyp und Kell-positiv im Phänotyp.

Auch k-Antikörper wurden in der Folgezeit mehrere beschrieben; es handelte sich dabei immer um Immun-Antikörper (22 - 27).

Der Nachweis von Kell-Antikorpern erfolgt meist im indirekten Coombs-Test, obwohl dieser nicht in allen Fällen die besten Ergebnisse bringt. O. Prokop und G. Uhlenbruck (20) fanden Kell-Seren, die in Albumin am besten reagierten und andere, die in AB-Serum besser anzeigten als im Coombs-Test.

III. DAS S/s-SYSTEM UND SEINE BEZIEHUNG ZU M UND N

Walsh und Montgomery (28) vom New South Wales Blood Transfusion Service, Sidney, fanden 1947 im Serum einer Frau neben einem inkompletten Antikörper gegen Rh_0 noch einen weiteren Antikörper, der allem Anschein nach zum MN-System gehörte, jedoch weder Anti-M noch Anti-N sein konnte. Nach 1947 konnten dann Sanger und Race (29) die Beziehung des neuentdeckten Merkmals zum MN-System feststellen. Der S-Antikörper zeigt ein mit den MN-Gruppen assoziiertes Antigen an. Durch Anti-S wurden in der englischen Bevölkerung etwa 55% aller Blutproben agglutiniert. Dieses Verhältnis verschiebt sich jedoch, wenn man die Beziehung zu den drei Gruppen M, N und MN betrachtet: etwa 73% der M-Proben, 32% der N-Proben und nur 4% der MN-Proben wurden durch Anti-S agglutiniert. Diese Werte zeigen eine deutliche Affinität von S zu M und sprechen für eine Verwandtschaft zwischen MN-System und S (4). Gerechnet wurde sie mit statistischen Methoden, nachdem eine Beziehung zu allen anderen bekannten Systemen (ABO-, P- Rh-, Lu-, Le- und Kell-System) ausgeschlossen werden konnte.

Der zweite Antikörper s wurde schon 1948 von Pickles aufgefunden, wiederum in Verbindung mit einem inkompletten Anti-Rh. Serumträger war eine Frau der Blutgruppe M mit einem hydropischen Kind; ihr Ehemann hatte MNS. 1949 beschrieben Race, Holt, Gorrus und Bessis (30) ein Anti-S, das nach wiederholten Bluttransfusionen gefunden worden war. Bei einer weiteren haemolytischen Transfusionsreaktion wurden dann von Cutbush und Mollison 1949 (31), außerdem von Brandes u.a. (32) 1954 erneut Anti-S-Seren entdeckt, auch hier vergesellschaftet mit einem inkompletten Anti-Rh. 1950 gelang es Coombs, Ikin, Mourant und Plaut (33), im Serum einer Frau ein Anti-S frei von Anti-Rh nachzuweisen. Dabei konnte ein Immunisierungsgeschehen nicht festgestellt werden, so daß man als sicher annehmen konnte, daß Anti-S auch als Isoagglutinin, wie Anti-M, vorkommt. 1952 - 1958 wurden noch mehrere Anti-S-Seren beschrieben; 12 davon hatten M. haemolyticus neonatorum verursacht. Die meisten traten als Antikörpergemische zusammen mit Anti-Rh auf (34 - 38).

An dieser Stelle sei auch auf die Beschreibung eines schweren haemolytischen Transfusionszwischenfalles infolge eines Anti-S verwiesen, der sich an der Chir. Universitätsklinik Tübingen zutrug (39). Dieser schwere Zwischenfall zeigt besonders deutlich, daß bei Mehrfachtransfusionen eine Überprüfung der Obergruppe und der Rh-Zugehörigkeit allein nicht genügt, insbesondere wenn

über die vorhergehenden Transfusionen keine anamnestischen Angaben vorliegen. Es ist vielmehr erforderlich, daß das Serum des Empfängers vor jeder neuen Blutübertragung mit einem geeigneten Testverfahren erneut auf das Vorhandensein eventueller Antikörper untersucht wird.

Anti-s wurde 1951 von Levine, Kuhmichel, Wigod und Koch (40) gefunden bei einer Frau, die ein Kind mit M. haemolyticus neonatorum geboren hatte. Auch Anti-s wurde in den folgenden Jahren mehrfach beschrieben, jedoch immer nur als Immun-Antikörper (41 - 44). Insgesamt erwiesen sich 89% der getesteten Personen als s-positiv.

Die Entdeckung zweier Antikörper, Anti-S und Anti-s, spricht für das Vorhandensein eines Genpaares, das zwar von M und N getrennt, aber doch eng mit ihm gekoppelt ist. Der Genotyp eines Individuums kann sein: SS (11%), Ss (44%), ss (45%). Im Gegensatz zu Anti-M und Anti-S, die ja Kälte-Antikörper sind, sind Anti-S und Anti-s bei 37° C aktiv.

IV. BLUTGRUPPENANTIGENE UND -ANTIKÖRPER UND DIE ANTIGEN-ANTIKÖRPER-REAKTION

Die wichtigsten Begriffe in der Blutgruppenserologie, wie überhaupt in der gesamten Immunologie sind "Antigen" und "Antikörper". An dieser Stelle soll nun zunächst kurz auf diese beiden Begriffe und auf das Wesen der Antigen-Antikörper-Reaktion eingegangen werden.

Die Antigene

Antigene sind hochmolekulare Polysaccharid-Aminosäure-Komplexe, wobei die Spezifität an die Polysaccharid-Komponente, die antigene Wirksamkeit an die Aminosäure-Komponente gebunden ist (45). Bei den meisten Blutgruppen sind die Antigene an den Erythrocyten lokalisiert, kommen jedoch, wie z.B. beim ABO-System, auch in allen Zellen des Körpers vor. Bis jetzt sind schon über 100 verschiedene Blutgruppenantigene bekannt, die mit ganz unterschiedlicher Häufigkeit vorkommen; deshalb kann man annehmen, daß jeder Mensch in Bezug auf seine Blutgruppenantigen-Zusammensetzung sich vom andern unterscheidet.

Die Antikörper

Antikörper sind ein Teil der Serumglobuline. Meist handelt es sich um γ-Globuline; sie können jedoch auch in einer anderen Gobulinfraktion erhalten sein - man bezeichnet diese dann als "Non-γ-Globuline". Für die Entstehung der Antikörper ist meist ein "antigener Reiz" verantwortlich. Läßt sich dieser nicht feststellen, so spricht man von "natürlichen Antikörpern", die zwar mit dem ihnen entsprechenden Antigen reagieren, jedoch nicht durch dessen Wirkung gebildet werden.

Da man die Antikörper-Globuline nicht ohne weiteres von den übrigen Serum-Globulinen unterscheiden kann, werden sie durch ihre serologischen Eigenschaften nachgewiesen, d.h. durch ihre Fähigkeit, mit dem ihnen entsprechenden Antigen eine sichtbare Reaktion hervorzurufen.

Die Antigen-Antikörper-Reaktion

In der Blutgruppenserologie werden drei Methoden zum sichtbaren Nachweis der Antigen-Antikörper-Verbindung verwandt: Präcipitation, Haemolyse und Agglutination, wobei letztere die wichtigste und gebräuchlichste ist. Sie geht in zwei Stufen vonstatten: zunächst lagern sich die Antikörper, die sogen. Agglutinine, den an der Oberfläche der Erythrocyten befindlichen Antigenen, den sogen. Agglutinogenen, an. Dieser als Sensibilisierung bezeichnete Vorgang geht relativ schnell vor sich. Daran schließt sich die zweite Stufe, die etwas langsamer erfolgende sichtbare Agglutination, an. Es werden dabei Aggregate verschiedener Größe gebildet, die zum Teil mit bloßem Auge, zum Teil aber auch nur mit Hilfe des Mirkoskops wahrgenommen werden können. Dazu müssen verschiedene Bedingungen erfüllt werden:

1. Es muß eine für die Agglutination ausreichende Antikörpermenge von den Erythrocyten aufgenommen werden.

2. Die roten Blutkörperchen müssen einer Temperatur ausgesetzt werden, die sowohl für eine Sensibilisierung als auch für eine Agglutination günstig ist.

3. Es muß sich um komplette Antikörper handeln.

Die beiden ersten Bedingungen sind relativ leicht zu erfüllen; da aber in der Blutgruppenserologie vor allem inkomplette Antikörper eine große Rolle spielen, hat man nach neuen Methoden gesucht, mit denen auch diese zur Agglutination gebracht werden können. Heute werden routinemäßig dreierlei Methoden angewandt:

1. Der Hochprotein-Slide-Test: man führt eine weitere Substanz mit hohem Molekulargewicht in das System ein. Dazu wird meist 20%iges Rinderalbumin verwandt.

2. Der Anti-Human-γ-Globulin-Test: man gewinnt durch Immunisierung von Kaninchen u.a. Anti-Human-γ-Globulin-Serum. Setzt man nun dieses Serum den mit Antikörpern beladenen roten Blutkörperchen zu, so reagiert es mit dem Antikörper-Globulin und reißt die Erythrocyten mit.

3. Der Enzym-Test: man präpariert die Oberfläche der Erythrocyten durch Andauung mit proteolytischen Fermenten wie Trypsin, Papain, Ficin und Bromelin (46 - 50).

Dieser Enzym-Test ist eine überaus empfindliche Methode. Wheeler u.a. (46) sowie Morton und Pickles (47) berichten über bessere Nachweismöglichkeiten im Bereich des Rh-Systems. Nach K. Hummel (51) erklärt sich die größere

Empfindlichkeit damit, daß durch die Andauung wassertragende Gruppen von der Oberfläche der Erythrocyten abgespalten werden und dadurch die Agglutinationskraft erheblich gesteigert wird. Der Nachteil der Methode liegt darin, daß nicht alle Antikörper zuverlässig erfaßt werden und zur Durchführung des Testes ein größerer Zeitaufwand nötig ist.

Die gebräuchlichsten Methoden sind nach wie vor der Hochprotein-Slide-Test wegen seiner einfachen Technik und dem verhältnismäßig geringen Zeitaufwand und der Anti-Human-γ-Globulin-Test (indirekter Coombs-Test).

V. TECHNIK DER HOCHPROTEIN-SLIDE-KREUZPROBE UND IHRE MODIFIKATION NACH W. SCHNEIDER

1. Objektträger mit Fettstift bezeichnen, links "E" für Empfänger, rechts "S" für Spender.
2. Zwei Tropfen Empfängerserum nebeneinander auf Objektträger geben.
3. Dazu je einen Tropfen 20%ige Rinderalbuminlösung.
4. Stecknadelkopfgroße Menge Erythrocytensediment des Spenders in den rechten mit "S" markierten Serum-Albumintropfen verrühren.
5. Wie unter 4. werden Empfängererythrocyten in den linken mit "E" bezeichneten Tropfen verrührt.
6. Objektträger in feuchte Kammer und für 30 Min. bei 37° C inkubieren.
7. Ablesung erfolgt unter leichtem Schaukeln des Objektträgers vor einer Lichtquelle.

Ablesung:

1. Die Kreuzprobe ist negativ, wenn in dem rechten mit "S" bezeichneten Gemisch keine Agglutination erfolgt.
2. Die Kreuzprobe ist positiv, wenn in dem rechten mit "S" bezeichneten Gemisch eine Agglutination auftritt, die in dem linken mit "E" bezeichneten Tropfen nicht beobachtet wird.
3. Feine Agglutinationen im Tropfen "S" können vernachlässigt werden, wenn sie im Tropfen "E" gleich stark oder stärker auftreten. Es handelt sich dann um Pseudoagglutinationen oder um Reaktionen, die durch Kälte- oder Autoantikörper hervorgerufen wurden. Die Kreuzprobe ist unspezifisch positiv - eine Transfusion kann trotzdem wie bei 1. durchgeführt werden.

Wie aus Untersuchungen von W. Schneider und P. Cornils hervorgeht, kann die Empfindlichkeit dieses Testes wesentlich gesteigert werden, wenn das Reaktionsgemisch statt nur kurz vor dem Ablesen während der gesamten Inkubationszeit gleichmäßig bewegt wird. Die Werte lagen im Bereich des ABO-Systems durchschnittlich um eine Verdünnungsstufe und im Bereich des Rh-Systems um zwei

Verdünnungsstufen einer geometrischen Verdünnungsreihe des antikörperhaltigen Serums höher. Beim Vergleich mit dem zur Zeit als bestes Kreuzverfahren empfohlenen indirekten Coombs-Test erwies sich der so modifizierte Hochprotein-Slide-Test im Bereich der Antikörper des Rh-Systems als durchweg empfindlicher. Die Untersuchungsergebnisse im einzelnen liegen in einer Arbeit von H. Sauter vor.

VI. TECHNIK DES ANTI-HUMAN-γ-GLOBULIN-TESTS

1. Drei Zentrifugenröhrchen werden mit "E", "S" und "+" (positive Kontrolle) bezeichnet.
2. In Röhrchen "E" und "S" je 5 Tropfen Empfängerserum, in das Kontrollröhrchen 2 Tropfen inkomplettes Antikörper-Serum und 3 Tropfen physiologische Kochsalzlösung.
3. In Röhrchen "E" 5 Tropfen einer 3 - 5%igen Aufschwemmung der Empfänger-Erythrocyten in physiologischer Kochsalzlösung.
4. In Röhrchen "S" 5 Tropfen einer gleichen Aufschwemmung von Spendererythrocyten.
5. In Kontrollröhrchen 5 Tropfen einer gleichen Aufschwemmung bekannter positiver Erythrocyten.
6. Röhrchen schütteln und für 30 - 60 Min. bei 37° C inkubieren.
7. Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung auffüllen.
8. Kurz zentrifugieren (1 000 - 1 500 Umdrehungen/Min.).
9. Überstehende Kochsalzlösung abgießen, wieder mit Kochsalzlösung füllen, schütteln und zentrifugieren (insges. 3mal) danach abgießen.
10. 5 Tropfen physiologische Kochsalzlösung in jedes Röhrchen tropfen und aufschütteln.

Ausführung:

1. Auf Objektträger nebeneinander 3 Tropfen Antiglobulin-Serum geben.
2. Darunter 3 Tropfen physiologische Kochsalzlösung (Blutkörperchenkontrolle).
3. In linke Reihe von oben nach unten (Antiglobulin-Serum und Kochsalzlösung) je 1 Tropfen Erythrocytenaufschwemmung aus Röhrchen "E", in mittlere Reihe je 1 Tropfen aus Röhrchen "S", in rechte Reihe je 1 Tropfen der mit Antikörpern beladenen Kontrollblutkörperchen.
4. Tropfen verrühren, ausbreiten, schaukeln und nach 2 - 3 Min. ablesen.

Ablesung

Die positive Kontrolle zwischen den sensibilisierten Blutkörperchen und dem Antiglobulin-Serum muß immer agglutiniert sein. Sind alle anderen Proben nicht agglutiniert, so ist die Kreuzprobe negativ. Ist die positive Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung ebenfalls positiv, so sind neben inkompletten auch komplette Antikörper vorhanden.

Positiv ist die Kreuzprobe, wenn außerdem die Probe in der Mitte zwischen Blutkörperchen "S" und dem Antiglobulin-Serum agglutiniert ist. Ist nur die Antiglobulin-Probe positiv, so enthält das Empfänger-Serum inkomplette Isoantikörper gegen das Spenderblut; ist dagegen auch die Kochsalzprobe positiv, so enthält das Empfängerserum komplette Isoantikörper.

Erfolgt auch eine Agglutination mit den Empfängererythrocyten, so sind Autoantikörper vorhanden, die wiederum in inkompletter oder kompletter Form vorliegen können.

VII. FRAGESTELLUNG

Dieser Arbeit liegt die Untersuchung zugrunde, inwieweit mittels des Hochprotein-Slide-Tests bzw. des indirekten Coombs-Tests zwar seltenere, aber doch für Transfusionsstörungen und M. haemolyticus neonatorum bedeutende Antikörper im Routinebetrieb einer Blutzentrale erfaßt werden können. Die Untersuchungen erfolgten im Bereich des K/k-Systems und des S/s-Systems. Wie schon in der vorhergehenden Arbeit von H. Sauter wird auch hier der Vergleich zwischen dem Anti-Human-γ-Globulin-Test (Coombs-Test) und dem nach W. Schneider modifizierten Hochprotein-Slide-Test angestellt. Allerdings wurde insofern eine Abänderung vorgenommen, als hier weniger auf die Titerwerte, als vielmehr auf die Nachweismöglichkeiten der entsprechenden Antigene an den Erythrocyten im Verlauf der üblichen 21tägigen Haltezeit einer Blutkonserve Wert gelegt wurde. Zu diesem Zweck wurden die Blutproben unter den gleichen Bedingungen gehalten wie die Konserven. Untersucht wurden sie zunächst am Tage nach der Blutentnahme, dann in der 2. Woche (10. / 11. Tag) und noch einmal am 21. Tag.

VIII. METHODIK

Für die Untersuchungen wurden Antikörperseren von verschiedenen Firmen verwendet. Die Testerythrocyten mit den verschiedenen Merkmalen wurden unter den Blutproben der Blutzentrale ausgewählt.

Alle Proben wurden zunächst nach den beiden oben beschriebenen Kreuzprobenverfahren auf ihre Agglutinationsstärke geprüft. Bei der makroskopischen Ablesung unterschieden wir drei Stärkegrade, die wir mit dreifach-positiv (grobschollige Agglutinate; keine nicht agglutinierten Erythrocyten), zweifach-positiv (deutliche Agglutinate, daneben auch nicht agglutinierte Erythrocyten) und einfach-positiv (gerade noch mit bloßem Auge sichtbare Agglutinate) bezeichnet haben; dazu kam die mikroskopische Ablesung, mikroskopisch positiv (nur noch im Mikroskop sichtbare Agglutinate). Etwa 20 Blutproben wurden zu Beginn mit allen verfügbaren Industrie-Antikörper-Seren geprüft, und dasjenige mit der höchsten Agglutinationsfähigkeit herauszufinden. Dieses Antikörperserum wurde dann in derselben Charge zur weiteren Untersuchung über drei Wochen verwendet.

Darüber hinaus wurden unter den Blutproben die fünf herausgewählt, die mit allen Antikörper-Seren sowohl im Hochprotein-Slide-Test als auch im indirekten Coombs-Test die stärkste Agglutination zeigten. Von diesen fünf wurden die Titerwerte bestimmt und ebenfalls über drei Wochen verfolgt. Aus den antikörperhaltigen Seren wurde mit antikörperfreiem AB-Serum eine geometrische Verdünnungsreihe bis zur Stufe 1 : 1 024 angelegt. Die einzelnen Verdünnungsstufen dieser Reihe wurden sowohl zum Ansatz eines Hochprotein-Slide-Tests in der Modifikation nach W. Schneider als auch zum Ansatz eines indirekten Coombs-Tests verwendet.

Die Bedingungen wurden bei beiden Tests, sowohl für die einfachen Kreuzproben, als auch für die Titerbestimmungen über alle drei Wochen gleich gehalten: in allen zum Vergleich kommenden Versuchen wurden die gleichen Mengen an antikörperhaltigen Seren verwendet. Für alle Coombs-Tests wurden gleichprozentige (5%) Erythrocyten-Suspensionen hergestellt, und für den Hochprotein-Slide-Schaukel-Test wurde immer eine möglichst gleiche Menge Erythrocyten-Sediment verwendet.

Zur Durchführung des Hochprotein-Slide-Schaukel-Tests wurden jeweils 1 Tropfen des antikörperhaltigen Serums (konzentriert und in den einzelnen

Verdünnungsstufen) mit je einem Tropfen 20%igen Rinderalbumins und einer stecknadelkopfgroßen Menge Erythrocyten-Sediment verrührt. Die Tropfengröße wurde durch Senkrechthalten und durch Verwendung möglichst gleicher Pipetten (0,2 ml) standardisiert. Die Objektträger mit den Reaktionsgemischen brachten wir in feuchte Kammern und dann für 30 Min. bei 37° C in den Brutschrank, wo sie auf einer Schaukelplatte in ständiger Bewegung gehalten wurden. Diese Platte wird durch einen elektrischen Motor dauernd in gleicher Frequenz (20 / Min.) und einer Amplitude von 2 cm (am äußeren Rand) bewegt. Die Ablesung erfolgte sofort nach der Inkubationszeit unter leichtem Schaukeln makroskopisch vor einer Lichtquelle und mikroskopisch bei mittlerer Vergrößerung.

Zur Durchführung des indirekten Coombs-Tests wurden jeweils 2 Tropfen des antikörperhaltigen Serums (konzentriert und in den einzelnen Verdünnungsstufen) zusammen mit je 2 Tropfen einer 5%igen Erythrocytensuspension in physiologischer Kochsalzlösung in ein Röhrchen gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 60 Min. bei 37° C wurden die Erythrocyten durch 3maliges Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung von noch vorhandenen Proteinen gesäubert. Von dem nach dem letzten Zentrifugieren und Abschütten übrigbleibenden Sediment wurde je ein Tropfen mit einem Tropfen Anti-Human-Globulin-Serum auf einem Objektträger gemischt, und nach 5minütigem Schaukeln wurde die Reaktion wie oben abgelesen. Bei allen Versuchen wurde immer das Anti-Human-Globulin-Serum derselben Firma und derselben Charge verwendet.

Die Leistungsfähigkeit der beiden Verfahren beurteilten wir einmal nach der Agglutinationsstärke in der oben angeführten Weise, zum andern nach der jeweils festgestellten Höhe der Titerwerte.

Für die Titerbestimmungen zu beachten bleibt noch die Tatsache, daß es für beide Methoden (Hochprotein-Slide-Schaukel-Test und Coombs-Test) keine Verdünnungsstufe 1 : 1 gibt, da zum Antikörper-Serum einerseits Rinderalbumin, andererseits physiologische Kochsalzlösung zugegeben wird. Die Reihe beginnt also mit der Stufe 1 : 2.

Bei der Untersuchung der verschiedenen Systeme mußten geringfügige Unterschiede gemacht werden, die bei der Besprechung der Versuchsergebnisse im einzelnen erwähnt werden sollen.

IX. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

a) Kell/Cellano-System

Kell-Gruppe

Aus dem Spendergut der Blutbank wählten wir 50 Kell-positive Blutproben aus, die wir über 3 Wochen in ihrer Reaktionsstärke beobachteten. Von jeder Blutprobe wurden immer gleichzeitig ein Hochprotein-Slide-Schaukel-Test und ein indirekter Coombs-Test angesetzt. Die ersten 16 Blutproben untersuchten wir mit insgesamt sieben verschiedenen Anti-K-Seren der Industrie, um dasjenige mit der höchsten Agglutinationsfähigkeit zu ermitteln. Mit diesem besten Serum setzten wir dann unsere Untersuchungen fort. Insgesamt wurden also über 300 Einzelversuche durchgeführt, die folgende Ergebnisse zeitigten:

Der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test war in der ersten Woche in 23 von 50 Fällen positiv, d.h. 46% der K-positiven Blutproben wurden erfaßt, jedoch ausschließlich bei mikroskopischer Ablesung. Sowohl in der zweiten, als auch in der dritten Woche zeigten alle Kreuzproben mit dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test negativ an.

Der Coombs-Test führte zu folgenden Ergebnissen:

In der ersten Woche waren von den 50 K-positiven Blutproben 22 dreifach positiv, das sind 44%; zweifach positiv waren ebenfalls 22, also 44% und einfach positiv waren 6, das entspricht 12%.

In der zweiten Woche waren von den 50 Blutproben 6 dreifach positiv, d.h. 12%; 17 waren zweifach positiv, das sind 34% und 27 waren einfach positiv, also 54%.

In der dritten Woche waren von den 50 Blutproben 12 dreifach positiv, das sind 24%; zweifach positiv waren 21 und damit 42% und einfach positiv waren 15, also 30%. Zwei Proben, das sind 4%, waren in der letzten Woche negativ. Bei allen Kreuzproben mit dem Coombs-Test genügte die makroskopische Ablesung.

Auf Titerbestimmungen mußten wir hier verzichten, da wir in mehreren Versuchen feststellten, daß die im Hochprotein-Slide-Schaukel-Test positiv reagierenden Kreuzproben so schwach positiv waren, daß sie über die erste Stufe nicht hinausgingen.

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß zur Erfassung der Kell-positiven Blutproben der indirekte Coombs-Test trotz seines großen Zeit- und Arbeitsaufwandes die Methode der Wahl bleibt.

Die Ergebnisse im einzelnen siehe Tab. I und XI.

Cellano-Gruppe

Wir untersuchten 46 k-positive Blutproben von Spendern der Blutbank. Wiederum kreuzten wir zunächst 19 davon mit 4 verschiedenen Anti-k-Seren der Industrie. Mit dem so ermittelten besten Serum führten wir alle weiteren Untersuchungen durch. Aus insgesamt 276 Einzelversuchen erhielten wir die folgenden Ergebnisse:

Für den Hochprotein-Slide-Schaukel-Test:

Erste Woche: dreifach positiv waren keine Proben; zweifach positiv waren von den 46 angesetzten Kreuzproben 6, d.h. 13%; einfach positiv waren 32, das sind 70%; mikroskopisch positiv waren 7 und damit 15%, negativ war 1 Blutprobe also ungefähr 2%.

Zweite Woche: dreifach oder zweifach positiv war keine der Blutproben. Einfach positiv waren von 46 Fällen 9, etwa 20%; mikroskopisch positiv waren 24, also 52%. Negativ waren mit 13 Kreuzproben 28%.

Dritte Woche: es fanden sich keine makroskopisch positiven Reaktionen mehr. Mikroskopisch positiv waren 18 von 46 Proben, etwa 39%. Alle anderen Kreuzreaktionen, 28 und damit 61%, waren negativ.

Für den Coombs-Test:

Erste Woche: von den 46 untersuchten k-positiven Blutproben waren 22 dreifach positiv, das sind 48%, zweifach positiv waren 23, also 50%; einfach positiv war 1 Probe, etwa 2%.

Zweite Woche: von den 46 Proben waren noch 5 dreifach positiv, das sind etwa 11%; 28, also 61%, waren zweifach positiv, und 13, also 28%, waren einfach positiv.

Dritte Woche: 7 von 46 Proben zeigten sich dreifach positiv, das entspricht 15%; zweifach positiv waren 17 Proben, also 37%, und einfach positiv waren mit 22 Proben 48%.

Alle Kreuzproben mit dem indirekten Coombs-Test waren also makroskopisch positiv.

Die einzelnen Ergebnisse seien wiederum im tabellarischen Anhang zusammengefaßt. Tab. II und XII.

Aus zusätzlichen Titerbestimmungen, die wir mit 5 k-positiven Blutproben und dem Serum mit der größten Agglutinationsfähigkeit durchführten, ging hervor, daß der indirekte Coombs-Test in der ersten Woche durchschnittlich um 1 - 2 Stufen besser anzeigte, als der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test (Coombs-Test bis zur 5. Verdünnungsstufe, HPSST 3. - 4. Verdünnungsstufe). In der zweiten Woche waren es ungefähr 2 Stufen (Coombs-Test 4. - 5. Stufe, HPSST 3. Stufe). In der dritten Woche, in der die Kreuzproben mit dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test alle negativ ausfielen, zeigte der Coombs-Test noch durchschnittlich bis zur 4. Verdünnungsstufe Agglutinationen an.

Die einzelnen Titerwerte siehe tabellarischer Anhang Tab. IIIa, b, IV u. XIII.

Die Angabe der Verdünnungsstufen bezieht sich jeweils auf die Werte der mikroskopischen Ablesung.

Die Versuche haben gezeigt, daß zur sofortigen Untersuchung der Blutproben, d.h. innerhalb der ersten Tage und auch noch in der zweiten Woche, der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test zur Erfassung der Antigene der Cellano-Gruppe im allgemeinen genügt. In der dritten Woche jedoch wird die Durchführung eines indirekten Coombs-Tests unerläßlich. Zu diesem Ergebnis führt sowohl die Betrachtung der Versuchsergebnisse ohne Titerbestimmung, als auch der Vergleich mit den Titerbestimmungen.

b) S/s-System

S-Gruppe

Aus dem Spendergut der Blutbank wurden 64 S-positive Blutproben für die Versuche ausgewählt. 25 Proben testeten wir mit 6 Anti-S-Seren verschiedener Firmen und erhielten somit wiederum das Anti-Serum mit der größten Agglutinationsfähigkeit, mit dem wir über 3 Wochen weiteruntersuchten. Insgesamt wurden etwa 200 Einzelversuche durchgeführt.

Eine Beobachtung, die der S-Gruppe in dieser Versuchsreihe eine Sonderstellung einräumt, soll vorneweg erwähnt werden. Nach anfänglichen Versuchen mit dem indirekten Coombs-Test erwies sich dieser als überflüssig, da die Anti-S-Seren ausnahmslos für den Test im Kochsalzmilieu deklariert waren. Hinzu kommt, daß der mit viel weniger Arbeitsaufwand durchführbare Hochprotein-Slide-Schaukel-Test ganz ausgezeichnete Ergebnisse zeitigte:

Die Agglutinationen waren durchweg über alle drei Wochen makroskopisch ablesbar.

In der ersten Woche waren von 64 Blutproben 41 dreifach positiv, das sind 64%. 23 Blutproben somit 36% waren zweifach positiv.

In der zweiten Woche waren 48 von 64 Blutproben dreifach positiv, d.h. 75%; zweifach positiv waren 12, das entspricht 19% und einfach positiv waren mit 4 Blutproben 6%.

In der dritten Woche waren noch 36 von 64 Proben dreifach positiv, also 56%. 19 Kreuzproben waren zweifach positiv, etwa 12%. Einfach positiv waren 8 Blutproben und damit 12%. Nur eine Reaktion blieb negativ.

Die Einzelergebnisse sind noch einmal im tabellarischen Anhang zusammengestellt, Tab. V und XIV.

Die Empfindlichkeit des Hochprotein-Slide-Schaukel-Tests beim Nachweis von S-Antigenen wurde weiterhin dadurch geprüft, daß mit sieben Anti-S-Seren der Industrie die Blutproben von fünf S-positiven Spendern über drei Wochen auf ihre Titerwerte untersucht wurden. Insgesamt ergab dies 105 einzelne Titerbestimmungen. Dabei zeigte sich, daß in der ersten Woche durchschnittlich die Titerstufe 5, d.h. eine Verdünnung von 1 : 32, in der zweiten Woche eine Titerstufe 5 bis 6 also Verdünnungsstufe 1 : 32 bis 1 : 64 und in der dritten Woche Titerstufe 4 bis 5, Verdünnungsstufe 1 : 16 bis 1 : 32 erreicht wurden.

Die einzelnen Titerwerte siehe Tab. VI a, b, c, d, e; VII und XVI.

Die Ergebnisse zeigen wohl eindeutig, daß für die Erfassung von S-Antigenen der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test die Methode der Wahl ist.

s-Gruppe

Die Untersuchungen im Bereich der Gruppe s wurden mit 67 ausgewählten Blutproben aus den Beständen der Blutbank durchgeführt.

18 der Proben wurden mit 6 verschiedenen Anti-s-Seren der Industrie untersucht, sowohl im Hochprotein-Slide-Schaukel-Test als auch im indirekten Coombs-Test, um wiederum das beste Serum zu ermitteln. Während der dreiwöchigen Untersuchungen wurden insgesamt 400 einzelne Kreuzproben angesetzt.

Die Ergebnisse für den Hochprotein-Slide-Schaukel-Test:

Drei- und zweifach positiv waren keine so getesteten Kreuzproben der ersten Woche. Einfach positiv waren 28, das entspricht 42%. Mikroskopisch positiv waren mit 39 Blutproben 58%. Keine Kreuzprobe zeigte negativ an.

In der zweiten Woche waren mit 11 Proben noch 16% einfach makroskopisch positiv. Mikroskopisch positiv waren 54, also 81%. Negativ waren diesmal jedoch 2 Blutproben, etwa 3%.

Die dritte Woche zeigte noch 5 einfach makroskopisch positive Reaktionen, somit 7%. Mikroskopisch positiv waren wiederum 54 Blutproben - 81%, und negatav waren diesesmal 8 Kreuzproben, d.h. 12%.

Die Ergebnisse für den Coombs-Test:

Die Ablesung konnte hier durchweg makroskopisch erfolgen.

In der ersten Woche waren mit 31 Blutproben 46% dreifach positiv; 51% also 34 Proben waren zweifach positiv und 2 Tests, also 3% brachten ein einfach positives Ergebnis.

In der zweiten Woche zeigten 37 Kreuztests dreifach positiv an, also 55%, 16, also 24%, waren zweifach positiv und 14 Proben, d.h. 21% waren einfach positiv.

Die dritte Woche hatte mit 50 Blutproben sogar 74,5% dreifach positive Reaktionen. 18%, 12 Proben, waren zweifach positiv und 4 Kreuzproben, also 6%, zeigten sich einfach positiv. Ein Kreuztest blieb negativ - 1,5%.

Die Einzelergebnisse sind wiederum dem tabellarischen Anhang zu entnehmen, Tab. VIII u. Tab. XV.

Mit den 6 verschiedenen Firmenseren wurden auch hier 5 Blutproben auf ihren Titer geprüft. In den drei Wochen ergab dies 180 einzelne Titerbestimmungen. Dabei zeigte sich, daß der Coombs-Test in der ersten Woche um 2 Stufen höher anzeigte (4. - 5. Verdünnungsstufe gegenüber 2. - 3. im Hochprotein-Slide-Schaukel-Test). In der zweiten Woche waren es sogar 3 Stufen (5. Verdünnungsstufe im Coombs-Test gegenüber 2. - 3. im HPSST), und in der dritten Woche ging der Coombs-Test wieder um 2 Stufen höher als der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test (4. - 5. gegenüber 2. Verdünnungsstufe).

Titerwerte siehe Tabelle IX a, b, c, d, e; X u. XVII.

Die Versuchsergebnisse bestätigen, daß in der ersten Woche nach der Blutentnahme bei der Erfassung von s-positiven Blutproben eine Untersuchung mit Hilfe des Hochprotein-Slide-Schaukel-Tests in jedem Falle zum Erfolg führt. Auch in der zweiten Woche ist der Prozentsatz der erfaßten s-positiven Blutproben noch so hoch (97%), daß der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test mit seinem geringeren Arbeitsaufwand durchaus zu empfehlen ist. Erst in der 3. Woche wird, um ganz sicher zu gehen, die Durchführung eines indirekten Coombs-Tests notwendig, obwohl auch hier der Prozentsatz der mit dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test erfaßten Blutproben noch bei 88% liegt.

Zur richtigen Beurteilung dieser Ergebnisse muß hier noch ergänzend erwähnt werden, daß sämtliche Antiseren der Industrie im Bereich der s-Gruppe ausnahmslos für den indirekten Coombs-Test deklariert waren.

X. ZEICHENERKLÄRUNG FÜR DIE GRAPHISCHEN DARSTELLUNGEN

Die beiden Testverfahren werden dadurch unterschieden, daß für den Hochprotein-Slide-Schaukel-Test immer vollausgefüllte Balken und Kästchen gezeichnet sind, während für den indirekten Coombs-Test einfach umrandete Balken und Kästchen stehen. Der Übergang von makroskopischer zu mikroskopischer Ablesung wird dadurch gekennzeichnet, daß die Balken an dieser Stelle unterbrochen sind; außerdem wird der mikroskopische Wert beim Hochprotein-Slide-Schaukel-Test noch dadurch hervorgehoben, daß die Balken gestrichelt wurden.

Hochprotein-Slide-Schaukel-Test:

Ohne Titer:	dreifach positiv	
	zweifach positiv	
	einfach positiv	
	mikroskopisch positiv	
Titerwerte:		

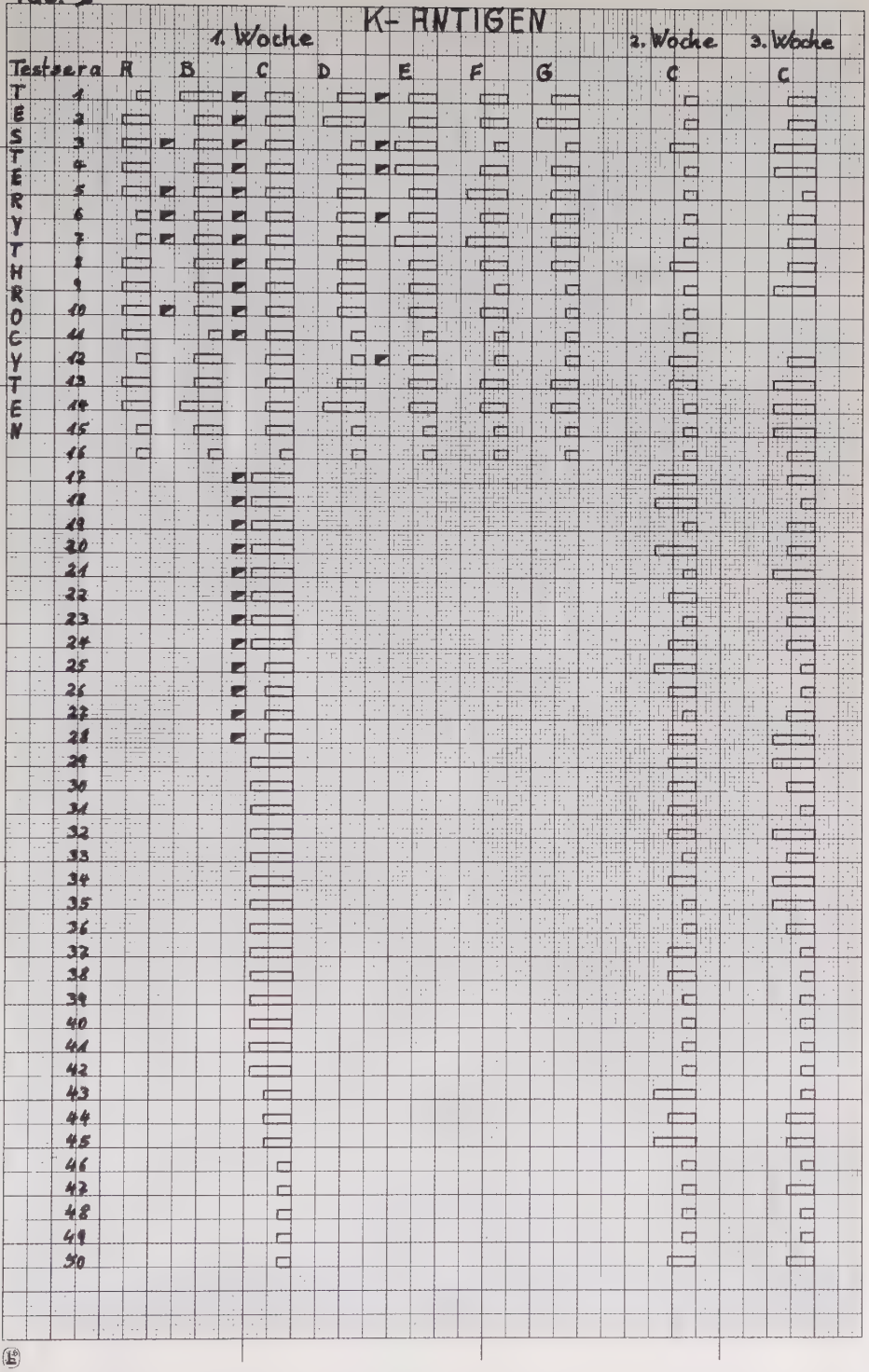
Indirekter Coombs-Test:

Ohne Titer:	dreifach positiv	
	zweifach positiv	
	einfach positiv	
Titerwerte:		

Verwendete Anti-Seren

Serum	von Lieferfirma deklariert für:
A	indirekter Coombs-Test
B	indirekter Commbs-Test
C	konglutinierend
D	indirekter Coombs-Test
E	indirekter Coombs-Test
F	Objektträger- oder Röhrchentest ohne Konglutinin und für Coombs-Test
G	Sedimenttest ohne Konglutinin

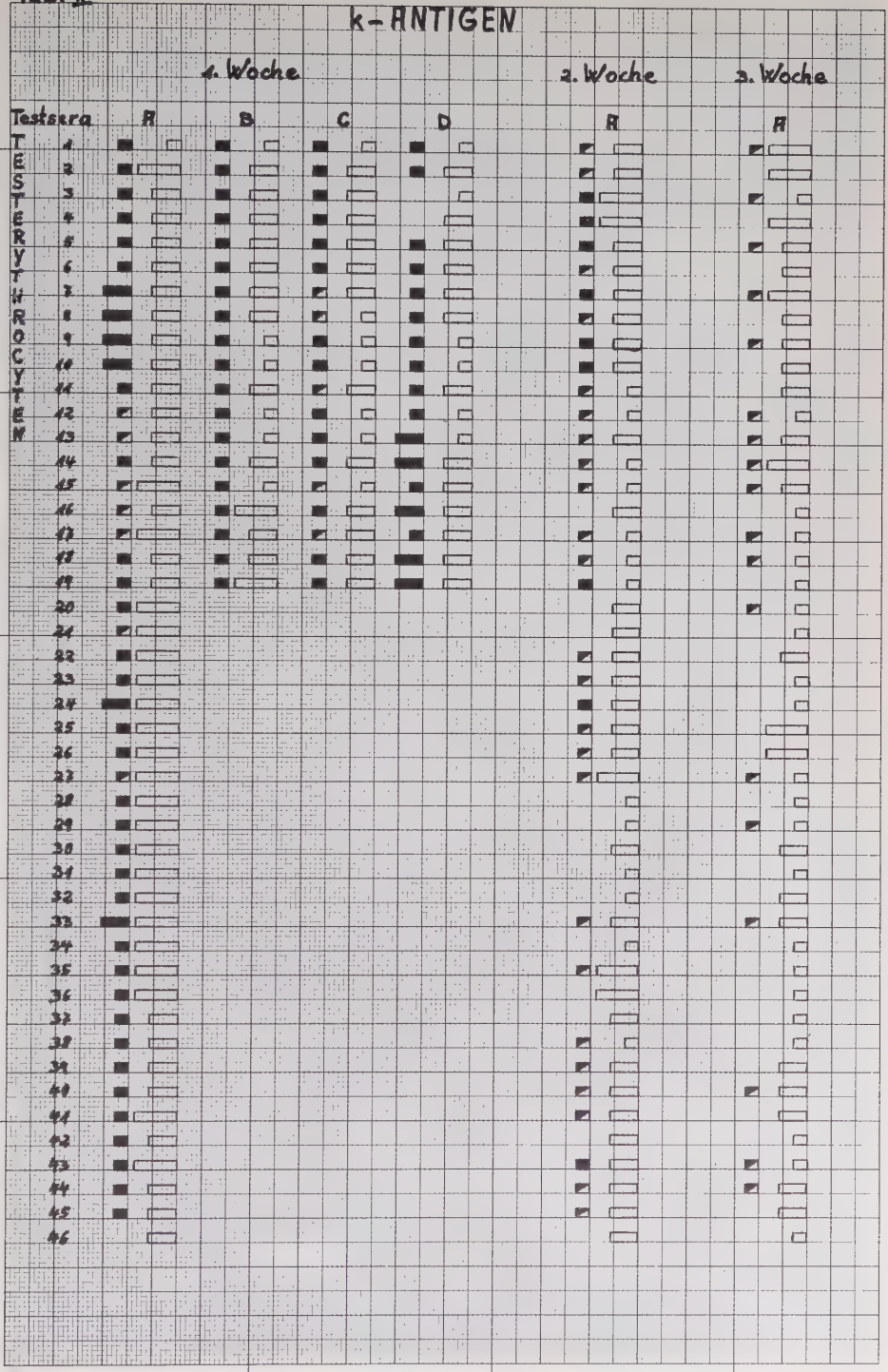
Tab. I


K- ANTIGEN
1. Woche
2. Woche
3. Woche
Testzera
A
B
C
D
E
F
G
C
C
TESTERYTHROCYTEN
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

Verwendete Anti-Seren

Serum	von der Lieferfirma deklariert für
A	indirekter Coombs-Test
B	indirekter Coombs-Test
C	indirekter Coombs-Test
D	Vollblut- oder Sedimenttest ohne Konglutinin oder für Coombs-Test

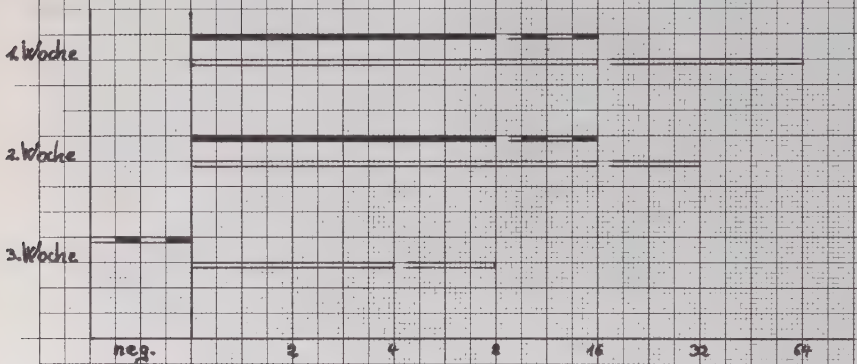
Tab. II


k-ANTIGEN
1. Woche
2. Woche
3. Woche
Testsera
A
B
C
D
A
A
TESTERYTHROCYTEN
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46

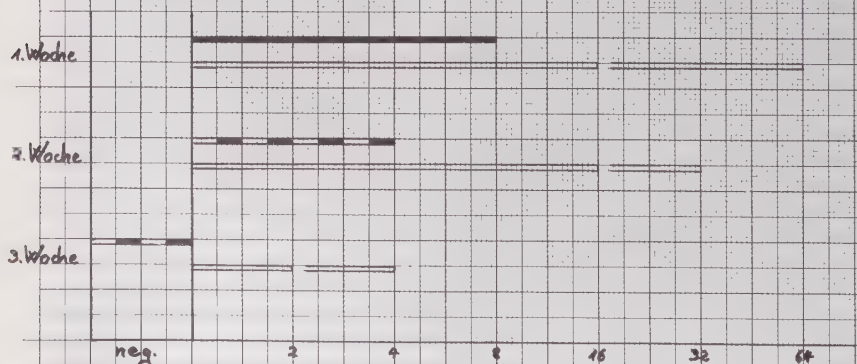
Tab. III a

Titerwerte eines k-Antigens in Funktion der Konservierungszeit der Test-Erythrocyten

Spender I

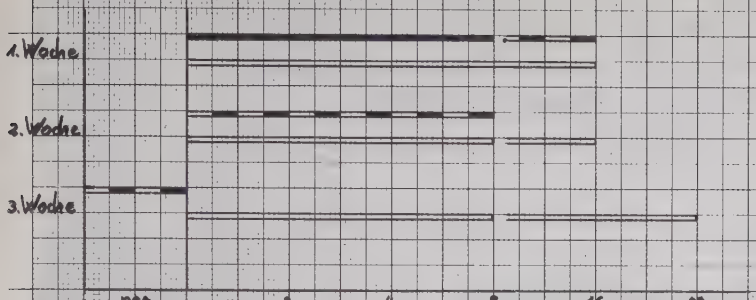


Spender II

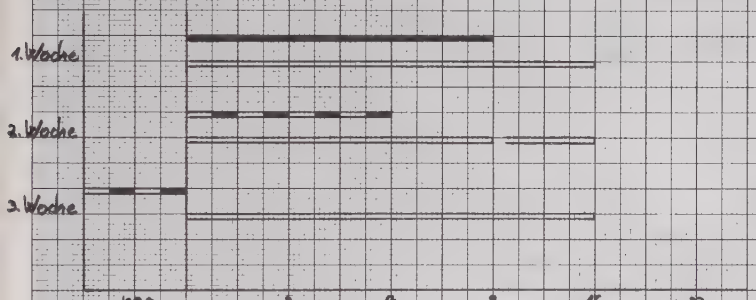


Tab. III b

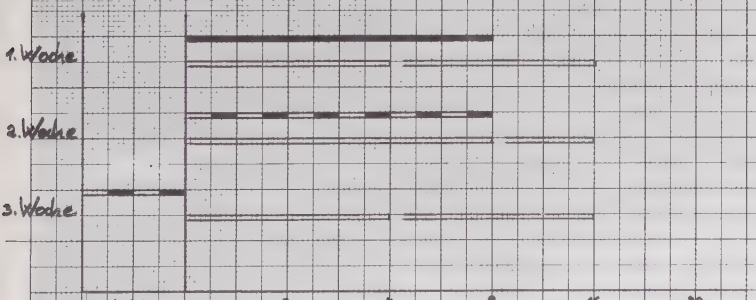
Spender III



Spender IV



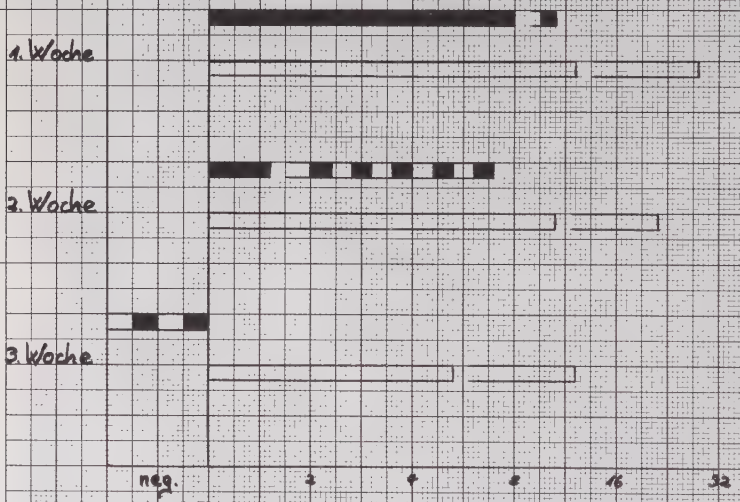
Spender V



Tab IV

k-Antigen

Durchschnittswerte der Titer

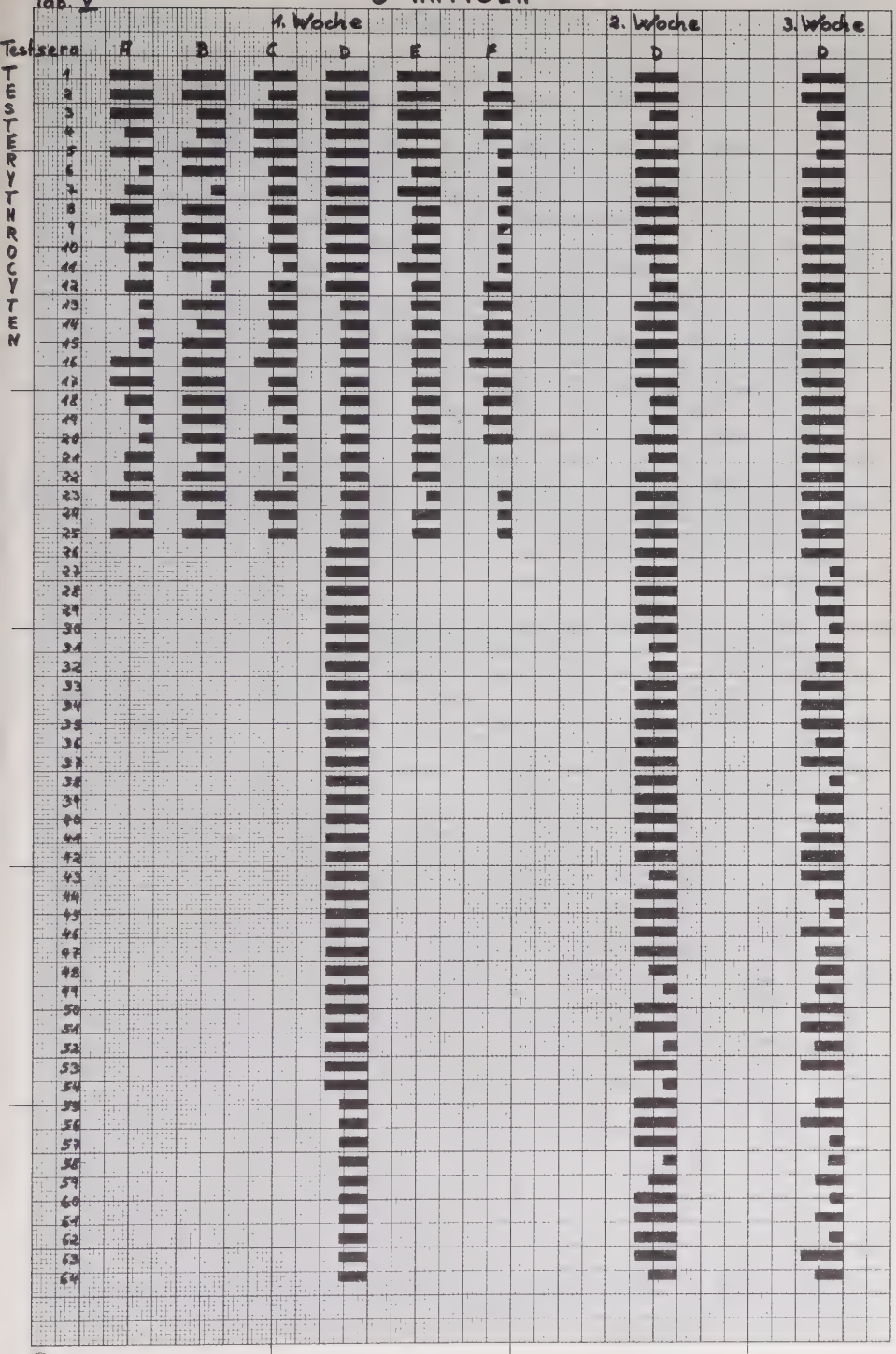


Verwendete Anti-Seren

Serum	von der Lieferfirma deklariert für
A	Röhrchentest in phys. Kochsalzlösung
B	Röhrchentest in phys. Kochsalzlösung
C	Röhrchentest in phys. Kochsalzlösung
D	Röhrchentest in phys. Kochsalzlösung
E	Röhrchentest in phys. Kochsalzlösung
F	Röhrchentest in phys. Kochsalzlösung

Tab. V

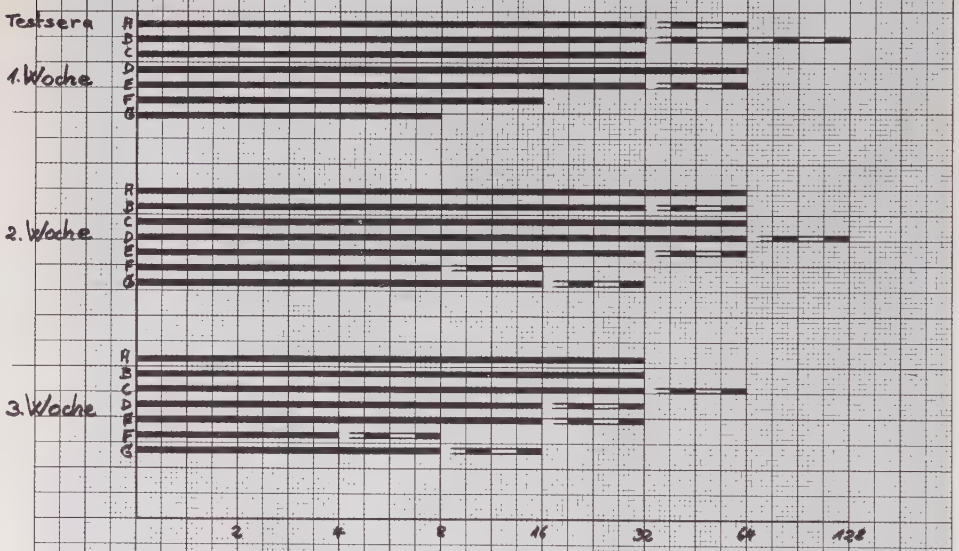
S-ANTIGEN



Tab. VI a

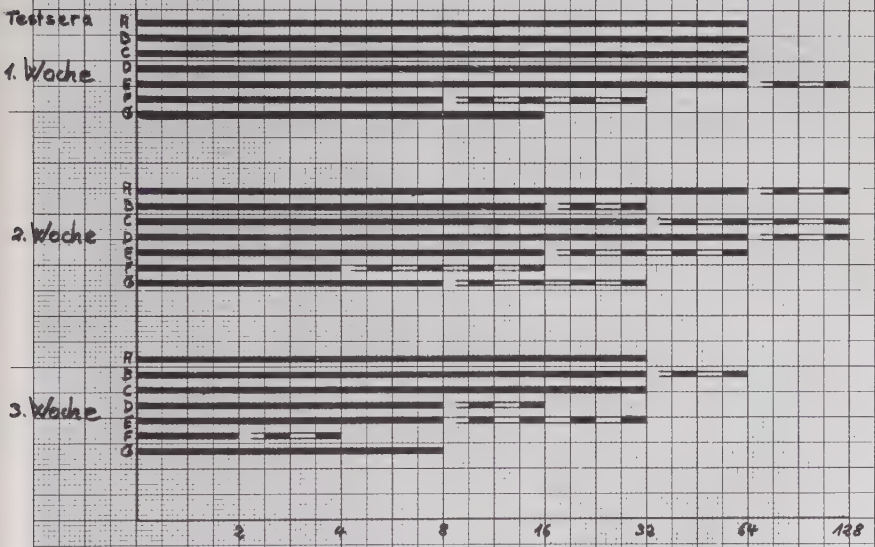
Titerwerte eines S-Antigens in Funktion der Konservierungszeit der Test-Erythrocyten

Spender I



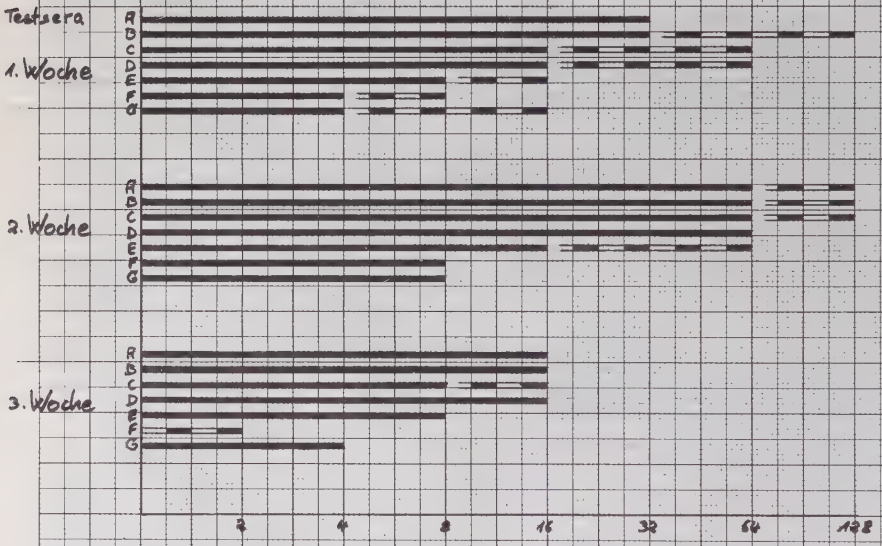
Tab. VI b

Spender II



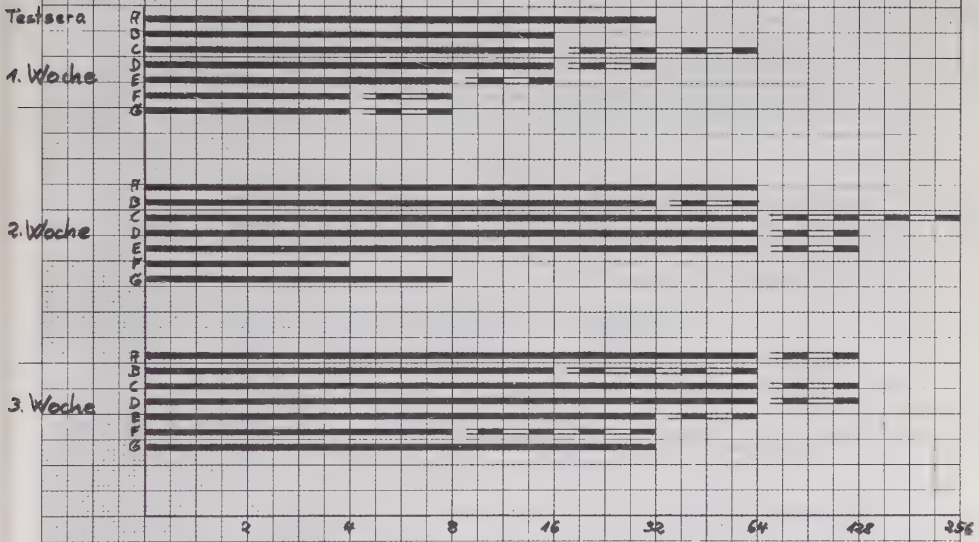
Tab. VI c

Spender III



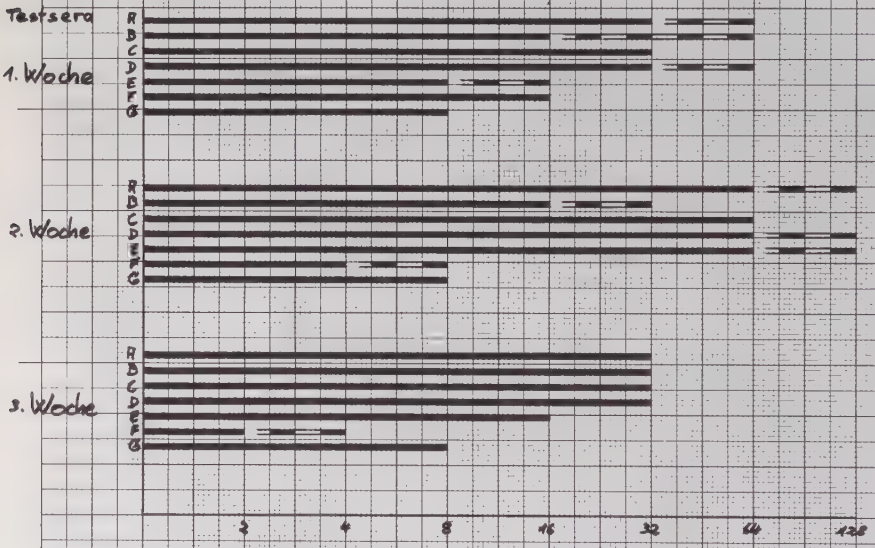
Tab. VI d

Spender IV



Tab. VI e

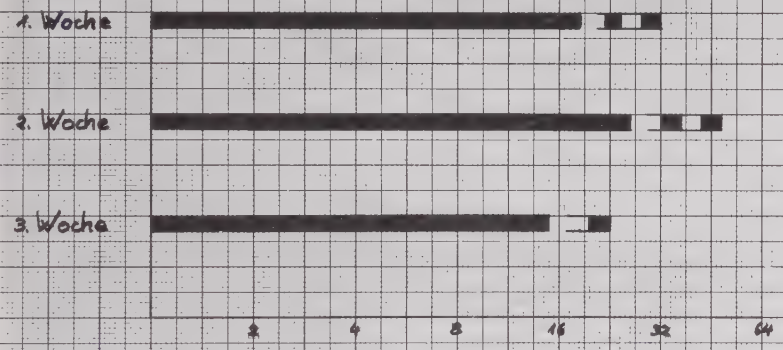
Spender V



Tab. VII

S-Antigen

Durchschnittswerte der Titer

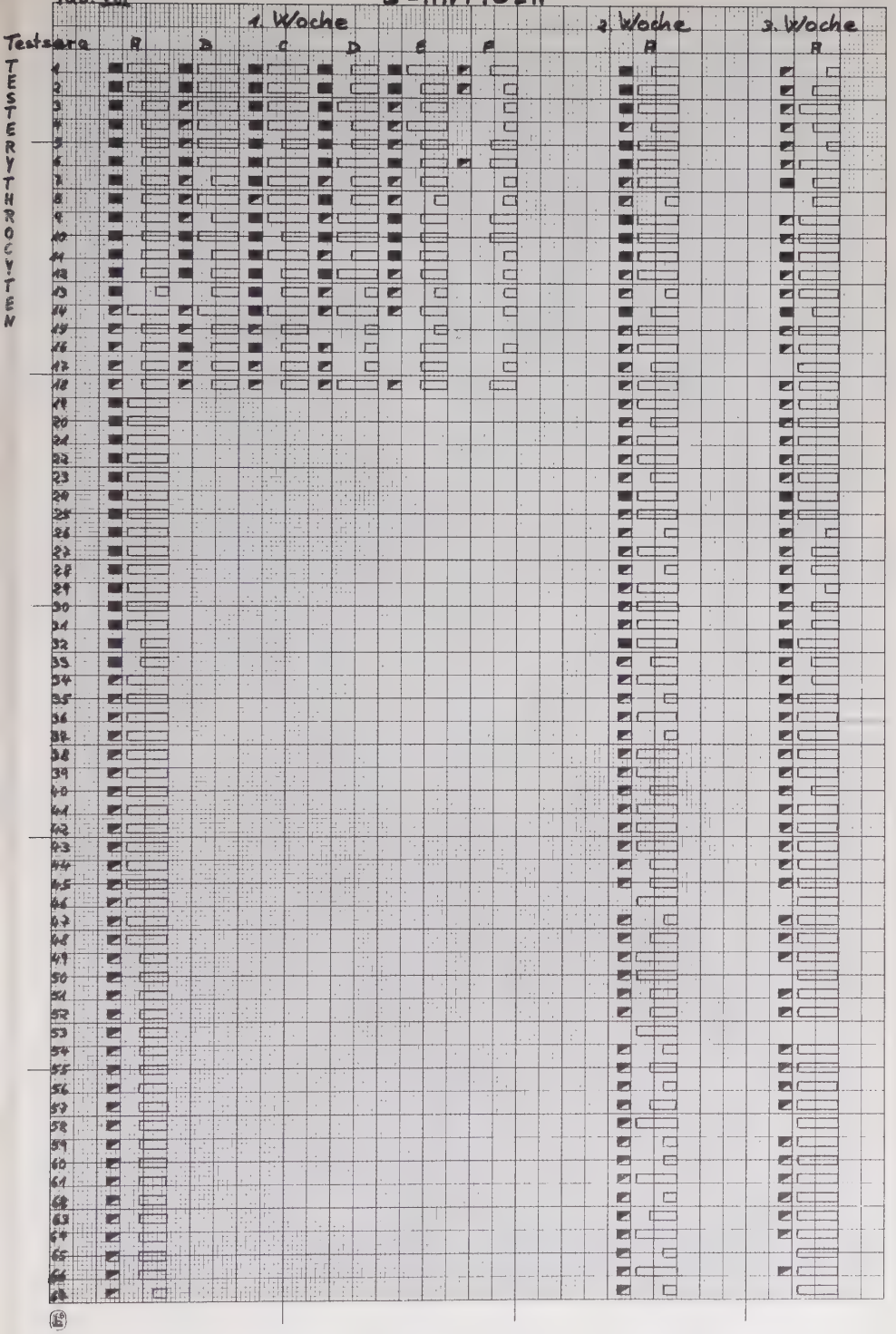


Verwendete Anti-Seren

Serum	von der Lieferfirma deklariert für
A	indirekter Coombs-Test
B	indirekter Coombs-Test
C	indirekter Coombs-Test
D	indirekter Coombs-Test
E	indirekter Coombs-Test
F	indirekter Coombs-Test

Tab. VIII

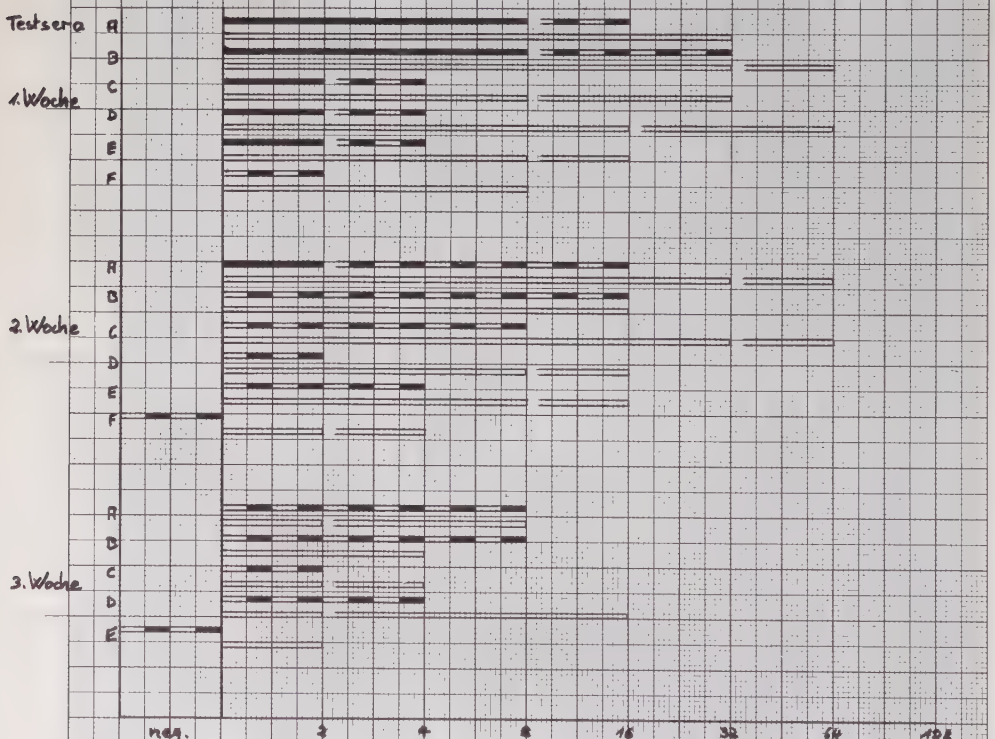
s-ANTIGEN



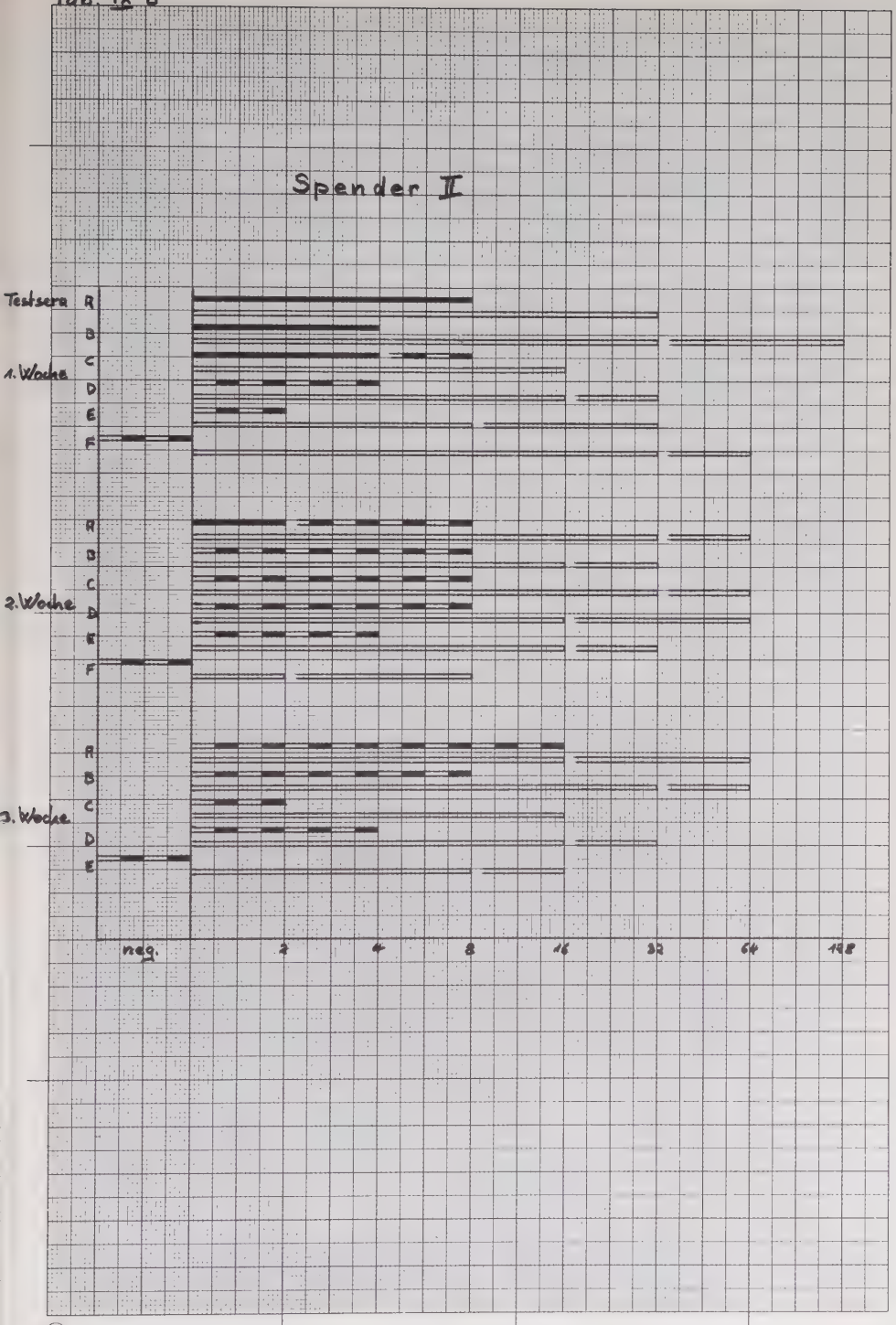
Tab. IX a

Titerwerte eines s-Antigens in Funktion der Konservierungszeit der Test-Erythrocyten

Spender I

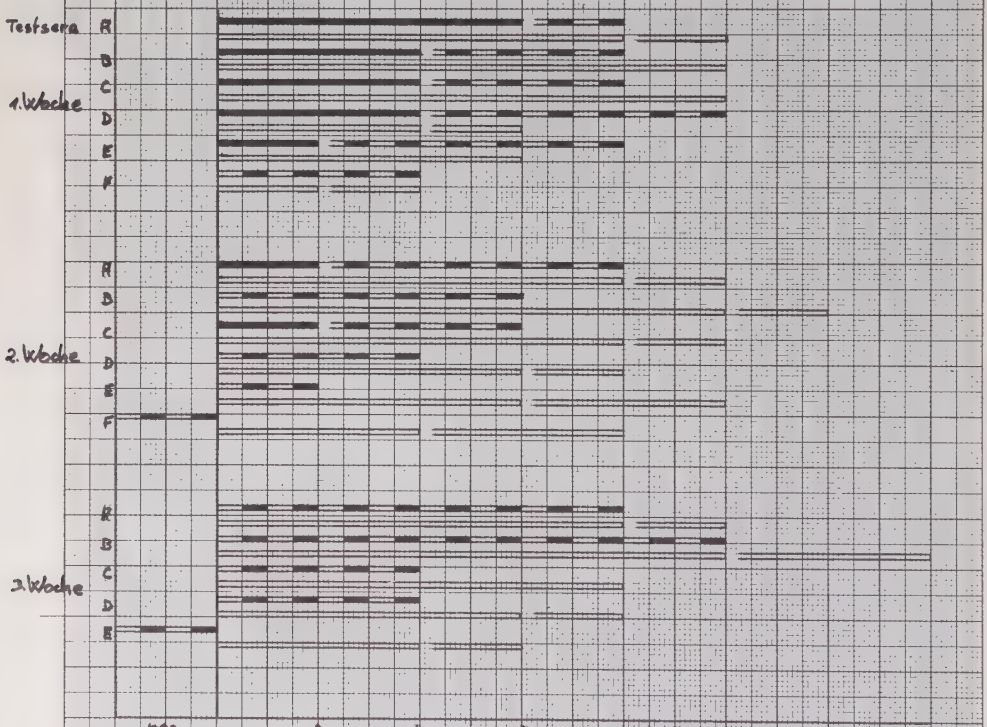


Tab. IX b

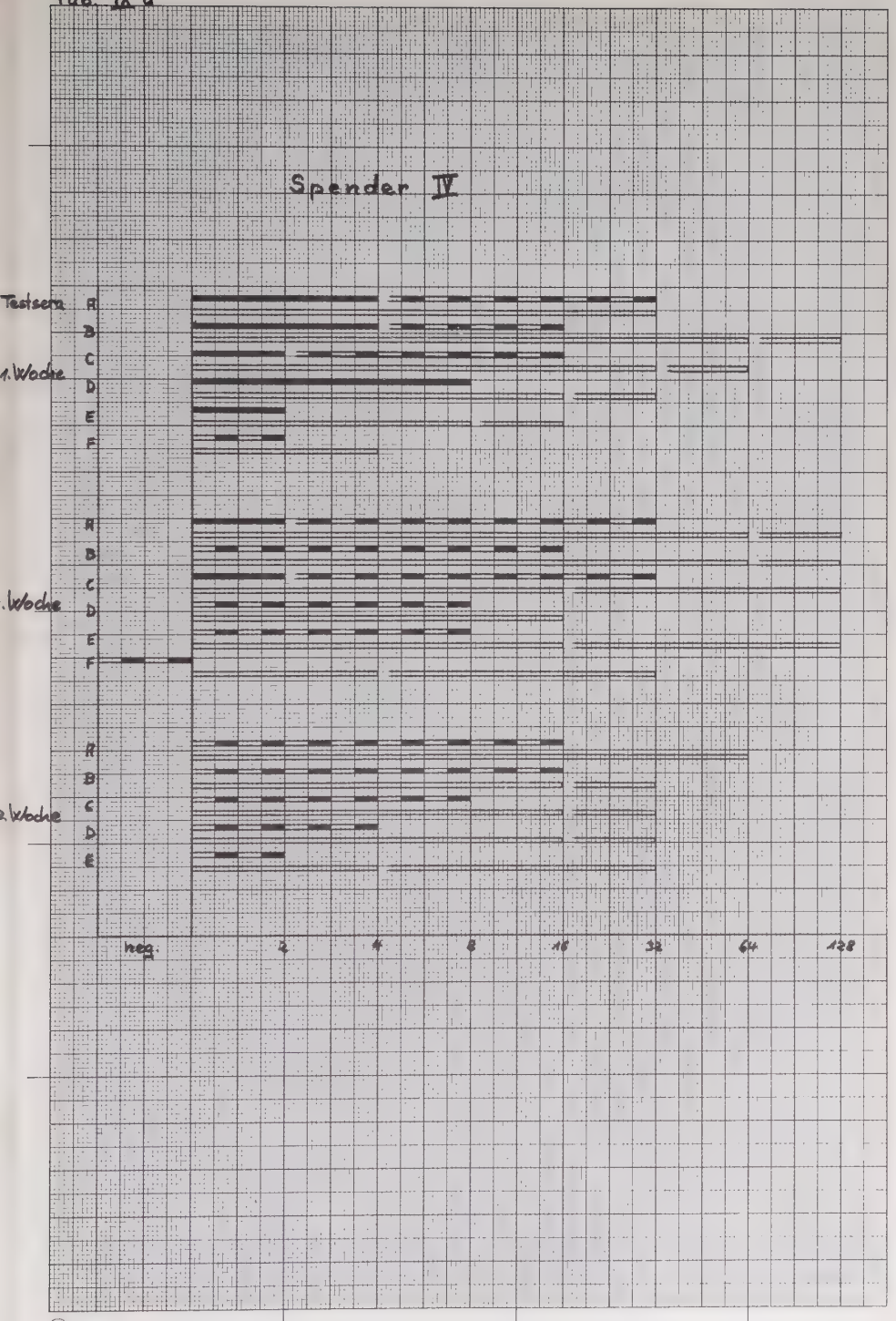

Spender II
Testsera
1. Woche
2. Woche
3. Woche
A
B
C
D
E
F
neg.
2
4
8
16
32
64
128

Tab. IX c

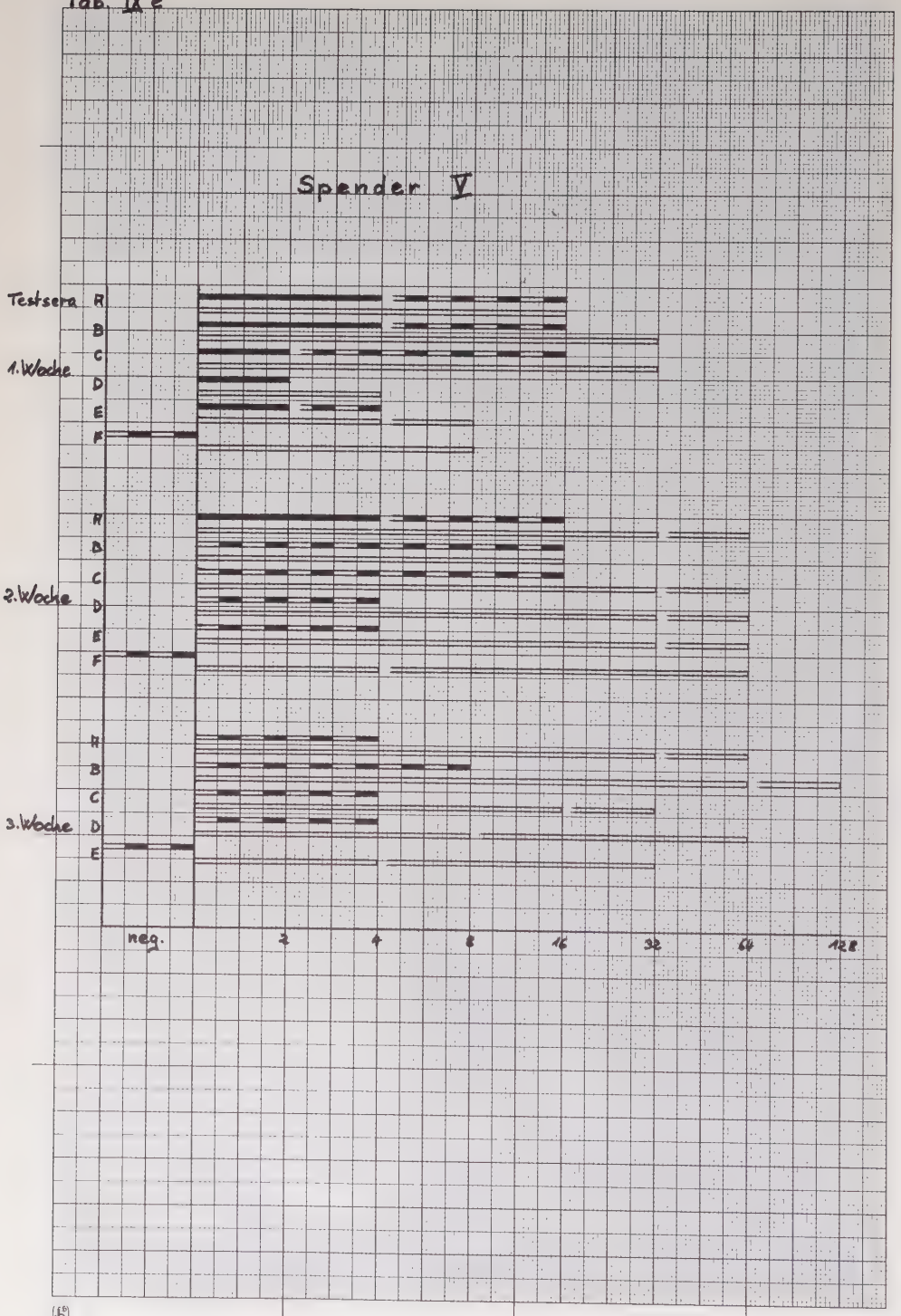
Spander III



Tab. IX d



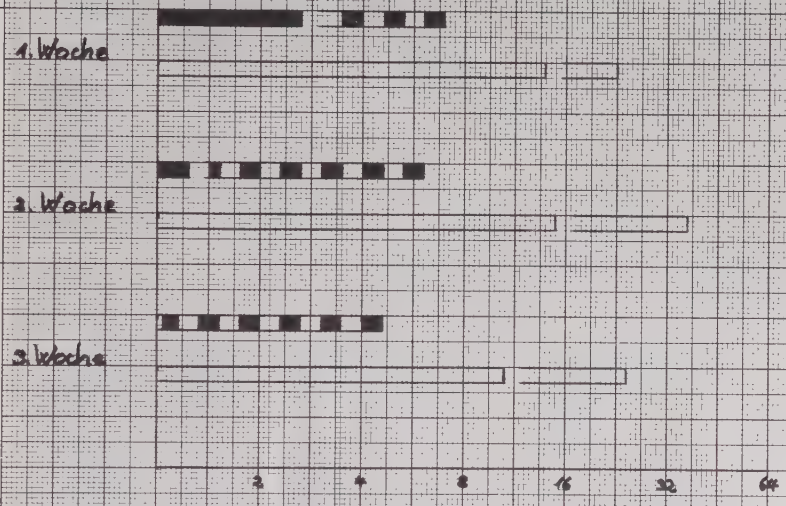
Tab. IX e


Spender V
Testsera
1. Woche
2. Woche
3. Woche
R
B
C
D
E
F
neg.
2
4
8
16
32
64
128

Tab. X

s-Antigen

Durchschnittswerte der Titer



Tab. XI

I. Prozentwerte der dreiwöchigen Untersuchungen in der Kell-Gruppe:

	1. Woche		2. Woche		3. Woche	
makroskop.	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs
+ + +	-	44%	-	12%	-	24%
+ +	-	44%	-	34%	-	42%
+	-	12%	-	54%	-	30%
mikroskop.	46%	-	-	-	-	-
negativ	54%	-	100%	-	100%	4%

Tab. XII

II. Prozentwerte der dreiwöchigen Untersuchungen in der Cellano-Gruppe:

	1. Woche		2. Woche		3. Woche	
makroskop.	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs
+ + +	-	48%	-	11%	-	15%
+ +	13%	50%	-	61%	-	37%
+	70%	2%	20%	28%	-	48%
mikroskop.	15%	-	52%	-	39%	-
negativ	2%	-	28%	-	61%	-

Tab. XIII

III. Titerwerte der dreiwöchigen Untersuchungen in der Cellano-Gruppe: (mikroskop. Ablesung)

	1. Woche		2. Woche		3. Woche	
Spender	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs
I.	16	64	16	32	0	8
II.	8	64	4	32	0	4
III.	16	16	8	16	0	32
IV.	8	16	4	16	0	16
V.	8	16	8	16	0	16

Tab. XIV

IV. Prozentwerte der dreiwöchigen Untersuchungen in der S-Gruppe:

	1. Woche	2. Woche	3. Woche
makroskop.	HPSST	HPSST	HPSST
+ + +	64%	75%	56%
+ +	36%	19%	30%
+	-	6%	12%
mikroskop.	-	-	-
negativ	-	-	2%

Tab. XV

V. Prozentwerte der dreiwöchigen Untersuchungen in der s-Gruppe:

	1. Woche		2. Woche		3. Woche	
makroskop.	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs
+ + +	-	46%	-	55%	-	74,5%
+ +	-	51%	-	24%	-	18,0%
+	42%	3%	16%	21%	7%	6,0%
mikroskop.	58%	-	81%	-	81%	-
negativ	-	-	3%	-	12%	1,5%

Tab. XVI

Titerwerte der dreiwöchigen Untersuchungen in der S-Gruppe (mikroskop. Ablesung)

Spender	1. Woche HPSST	2. Woche HPSST	3. Woche HPSST
I.	64	64	32
	128	64	32
	32	64	64
	64	128	32
	64	64	32
	16	16	8
	8	32	16
II.	64	128	32
	64	32	64
	64	128	32
	64	128	16
	128	64	32
	32	16	4
	16	32	8
III.	32	128	16
	128	128	16
	64	128	16
	64	64	16
	16	64	8
	8	8	2
	16	8	4
IV.	32	64	128
	16	64	64
	64	256	128
	32	128	128
	16	128	64
	8	4	32
	8	8	32
V.	64	128	32
	64	32	32
	32	64	32
	64	128	32
	16	128	16
	16	8	4
	8	8	8

Tab. XVII

Titerwerte der dreiwöchigen Untersuchungen in der s-Gruppe (mikroskop. Ablesung)

	1. Woche		2. Woche		3. Woche	
Spender	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs	HPSST	Coombs
I.	16	32	16	64	8	8
	32	64	16	16	8	4
	4	32	8	64	2	4
	4	64	2	16	4	16
	4	16	4	16	0	2
	2	8	0	4		
II.	8	32	8	64	16	64
	4	128	8	32	8	64
	8	16	8	64	2	16
	4	32	8	64	4	32
	2	32	4	32	0	16
	0	64	0	8		
III.	16	32	16	32	16	32
	16	32	8	64	32	128
	16	32	8	32	4	16
	32	8	4	16	4	16
	16	8	2	32		
IV.	32	32	32	128	16	64
	16	128	16	128	16	32
	16	64	32	128	8	32
	8	32	8	16	4	32
	2	16	8	128	2	32
	2	4	0	32		
V.	16	16	16	64	4	64
	16	32	16	16	8	128
	16	32	16	64	4	32
	2	4	4	64	4	64
	4	8	4	64	0	32
	0	8	0	64		

XI. ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION

Wer einmal die Möglichkeit hat, Einblick in die tägliche Arbeit in einer Blutzentrale zu bekommen, wird unschwer die eminente Bedeutung der Bluttransfusionen im gesamten Bereich der Medizin erkennen. Er wird aber auch bald die Gefahren erkennen, die mit dem großen Verwendungsspektrum der Blutkonserven verbunden sind. Heute, da es keine Seltenheit mehr ist, daß ein Mensch, wenn nötig, 50 und mehr Bluttransfusionen erhält, sind die selteneren Blutgruppensysteme, denen früher mehr das wissenschaftliche Interesse der Blutgruppenserologen galt, immer mehr zu praktischer Bedeutung gelangt. Denn durch die ständig zunehmende Anzahl von Bluttransfusionen nimmt naturgemäß auch die Möglichkeit der Sensibilisierung der Empfänger zu. Und zwar spielen hier gerade jene selteneren Blutgruppen und ihre Antikörper die wichtigste Rolle. Deshalb ist es von großer Bedeutung, die Leistungsfähigkeit unserer herkömmlichen Testverfahren im Bereich dieser Gruppen zu prüfen, und dasjenige mit der größten Empfindlichkeit zu ermitteln.

In dieser Arbeit wurde nun der Versuch im Bereich des Kell/Cellano- und des S/s-Systems unternommen, und zwar durch den Vergleich des nach W. Schneider modifizierten Hochprotein-Slide-Tests mit dem derzeit als sicherste Methode empfohlenen indirekten Coombs-Test. Die Leistungsfähigkeit des Hochprotein-Slide-Schaukel-Tests wurde schon in zwei vorhergehenden Arbeiten von P. Cornils und H. Sauter unter Beweis gestellt, einmal im Bereich des ABO-Systems, zum andern im Bereich des Rh-Systems, wobei ebenfalls der Vergleich mit dem indirekten Coombs-Test vorgenommen wurde. Im Unterschied zu den vorherigen Arbeiten wurden hier jedoch die Nachweismöglichkeiten während der 21tägigen Haltezeit der Blutkonserven weiterverfolgt, um ein vollständigeres Bild von der Empfindlichkeit der Tests zu erhalten.

Die für die Untersuchungen notwendigen Blutproben mit den entsprechenden Erythrocytenmerkmalen wurden aus den Beständen der Blutzentrale entnommen; die verwendeten Antikörper-Seren stammten von verschiedenen Firmen der Industrie.

Es wurde zunächst jeweils das Antiserum mit der höchsten Agglutinationsfähigkeit ermittelt, mit dem dann die Untersuchungen über drei Wochen weitergeführt wurden. Unabhängig davon wurden mit fünf Blutproben auch Titerbestimmungen vorgenommen, die ebenfalls während der 21 Tage weiterverfolgt wurden.

Die Versuchsergebnisse im einzelnen:

Kell/Cellano-System

Im Bereich der Kell-Gruppe bewies der indirekte Coombs-Test erneut, daß er die einzige sichere Nachweismethode für das Vorhandensein von entsprechenden Antikörpern im Serum eines Empfängers bleibt. Es gelang zwar auch mit dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test in 46% der Fälle, K-Antikörper in Serumproben zu erfassen, jedoch blieben die Agglutinate so schwach, daß sie nur mit dem Mikroskop zu erkennen waren; außerdem blieben diese 46% auf die erste Woche beschränkt. In der zweiten und dritten Woche waren alle mit dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test angesetzten Reaktionen negativ.

Die mit dem indirekten Coombs-Test angesetzten Kreuzproben blieben in allen Fällen, auch während der zweiten und dritten Woche, makroskopisch positiv.

Auf Titerbestimmungen mußte bei der Kell-Gruppe verzichtet werden, da die mit dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test positiven Kreuzproben über die erste Verdünnungsstufe nicht hinausgingen.

Im Bereich der Cellano-Gruppe erwies sich der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test in der ersten Woche als durchaus geeignet. 98% der angesetzten Kreuzproben zeigten ein positives Ergebnis; 83% waren sogar makroskopisch erkennbar. In der zweiten Woche war mit 72% ebenfalls noch ein hoher Prozentsatz positiv, wenn auch der makroskopische Anteil schon auf 20% gesunken war. Die dritte Woche brachte noch 39% positive Kreuzproben, die jedoch alle nur mit Hilfe des Mikroskops erkennbar waren.

Der indirekte Coombs-Test blieb auch hier in allen Fällen und über drei Wochen makroskopisch positiv.

Bei den Titerbestimmungen erwies sich zwar der indirekte Coombs-Test bei allen drei Untersuchungsgängen als durchweg empfindlicher (bis zur 5. Verdünnungsstufe), aber auch der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test konnte seine Berechtigung als Testverfahren für die erste und zweite Woche verdeutlichen; er erreichte bei beiden Untersuchungsgängen die dritte Verdünnungsstufe. In der dritten Woche blieb er jedoch negativ.

S/s-System

Die S-Gruppe stellt insofern eine Besonderheit dar, als sich hier der indirekte Coombs-Test als überflüssig erwies. Obwohl die Antiseren ausnahmslos für den Test in Kochsalzmilieu deklariert waren, brachten die Kreuzproben nach dem

Hochprotein-Slide-Schaukel-Testverfahren so ausgezeichnete Ergebnisse, daß dieser Test für den Routinenachweis innerhalb einer Blutzentrale nur empfohlen werden kann.

Die Reaktionen blieben in der ganzen Zeit von drei Wochen makroskopisch positiv und die Titerwerte hielten sich durchweg in Höhe der 5. Verdünnungsstufe.

Die Ergebnisse im Bereich der s-Gruppe waren folgende: in der ersten Woche wurden vom Hochprotein-Slide-Schaukel-Test 100% der Proben erfaßt, 42% sogar mit makroskopischer Ablesung. In der zweiten Woche waren es noch 97% und in der dritten Woche immer noch 88%. Der Coombs-Test blieb in allen Fällen über drei Wochen makroskopisch ablesbar.

Bei den Titerbestimmungen ging der Coombs-Test zwar immer um 2 Verdünnungsstufen höher (4. - 5. Stufe), der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test erreichte aber immerhin in allen drei Untersuchungsgängen die 2. - 3. Verdünnungsstufe. In der dritten Woche war jedoch nur noch eine mikroskopische Ablesung möglich.

Diesen Ergebnissen zufolge, kann der Hochprotein-Slide-Schaukel-Test zur Erfassung von s-Antikörpern in den ersten beiden Wochen durchaus empfohlen werden. Erst in der dritten Woche wird, um ganz sicher zu gehen, der indirekte Coombs-Test notwendig.

Betrachtet man nun die Ergebnisse insgesamt, so zeigt sich, daß der Anti-Human-γ-Globulin-Test seine Stellung als sicherstes Nachweisverfahren im Bereich der diskutierten Antikörper zwar behalten hat, daß aber zumindest im Bereich der Cellano- und s-Gruppe der Hochprotein-Slide-Test in seiner Modifikation nach W. Schneider für den Routinebetrieb einer Blutzentrale durchaus empfohlen werden kann, wenn die Konservenerythrocyten, die aus den Kreuzröhrchen jeweils entnommen wurden, nicht älter als 14 Tage sind. Wird aber eine Konserve getestet, die sich bereits in ihrer dritten Konservierungswoche befindet, so wird man auch hier nicht auf die Durchführung eines indirekten Coombs-Tests verzichten. Ein Anti-S dagegen kann auch in der dritten Konservierungswoche noch mit Sicherheit mit dem Hochprotein-Slide-Schaukel-Test erfaßt werden, so daß hier die Durchführung eines indirekten Coombs-Tests nicht notwendig wird.

XII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Landsteiner, K. und Wiener, A.S.: An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. Proc. Soc. Exper. biol. Med. (NY.) 1940

2. Landsteiner, K. und Wiener, A.S.: Studies on an agglutinogen (Rh) in the human blood reacting with antirhesus sera and with human isoantibodies. I. Exper. Med. 1941

3. Gramlich, F.: Die Receptorfunktion der Erythrocyten. Bibb. Haematologica, Fasc. 25

4. Boorman, K.E. und Dodd, B.E.: An Introduction to Blood Group Serology. J. a. A. Churchill Ltd., Lond.

5. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. und Race, R.R.: A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh-agglutinins. Porit. J. Exper. Path. 1945

6. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. und Race, R.R.: Detection of weak and "incomplete" Rh-agglutinins: a new test. Lancet 1945

7. Wiener, A.S. und Sonn-Gordon, E.B.: Réaction transfusionelle hémolytique intragroupe due à un hémagglutinogène jusque ici non décrit.

8. Sanger, R., Bertinshaw, D., Lawler, S.D. und Race, R.R.: Les groupes sanguins humains Kell: fréquences géniques et recherches génétiques Rev. hémat. 4, 32 (1949)

9. Cochrane, B.S.: Kell-Cellano blood group system in pregnancy and transfusion. Brit. Med. J. 4690, 1203 (1950)

10. Dunsford, J.: Asaline agglutinating Kell antibody. Nature 163, 962 (1949)

11. Prokop, O. und Schleyer, F.: Rh-fremde Sensibilisierung als Ursache von Fehlgeburten: Kell-Erythroblastose. Dtsch. med. Wschr., 76, 20 656 (1951)

12. Krak, E., Dickgiesser, F. und Pfau, P.: Morbus haemolyticus neonatorum eine Folge spontaner intravitaler Kell-Immunisierung und Heilung durch Austauschtransfusion. Geburtsh. u. Frauenhk., 12, 10, 917 (1952)

13. Wiener, A.S., Brancato, G.J. und Waltmann, R.: Observation on isosensibilization to the Kell-factor. J. Laborat. Clin. Med. 42, 5, 570 (1953)

14. Yokoyama, M., Asano, T. und Takeuchi, M.: The first case of anti-Kell antibody in Japan. Sonderdruck des Blood Typing Laboratory and Rh-Center der Tokio Medical and Dental University. 1958

15. Collins, J.O., Sanger, R., Allen, F.H. und Race, R.R.: Nine blood group antibodies in a single serum following multipe transfusions. Brit. Med. J., 1, 1292 (1950)

16. Ottensooser, F., Mellone, O. und Biancala, A.: Fatal transfusion reaction due to the Kell factor. Blood, VIII, 111, 1029 (1953)

17. Schwarz, E. und Richlin, W.: Über einen Fall von Isoimmunisierung gegen die Erythrocytenantigene E, c und K als Folge wiederholter Bluttransfusionen. Schweiz. med. Wschr., 83, 258 (1953)

18. Peschel, E., Mc Intosh, H. und Brown, J.W.: Acute tubular necrosis after transfusion reaction due to anti-Kell antibodies. J. Amer. Med. Ass., 167, 14, 1736 (1958)

19. Bell, W.N.: Four examples of acute renal shutdown associated with anti-Kell antibodies. 8th Congr. Intern. Soc. of Blood Transfusion, Tokio 1960. Kongreßbericht.

20. Prokop, O. und Uhlenbruck, G.: Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen.

21. Levine, P., Backer, M., Wigood, M. und Ponder, R.: A new human hereditary blood property (Cellano) present in 99,8% of all bloods. Science 1949

22. Shapiro, M.: Observations on the Kell-Cellano (K - k) blood group system with examples of anti-K and anti-k. S. Afr. Med. J. 26, 951 (1952)

23. Crawford, H., Cutbush, M. und Mollison, P.L.: Specifity of incomplete "cold" antibodies in human serum. Lancet, 566 (1953)

24. Pettenkofer, H.J. und Hennemann, H.H.: Anti-k (Anti-Cellano) im Serum einer mehrfach transfundierten Patientin. Blut, 3, 149 (1957)

25. Heistö, H., Vogt, E. und Heier, A.M.: A case of anti-Cellano, in: P.H. Andresen Papers Indedication, S. 80, Munksgaard, Copenhagen (1957)

26. Lang, B.G. und Lodge, T.W.: Anti-k (Cellano) detected on routine RBO and D typing of donar bloods. Vox. Sanguinis, 6, 359 (1961)

27. Newstead, P.H. und Nona Bruce: The investigation of an uncommon blood group antibody, anti-k. Canad. J. Med. Technol., 127 (1961)

28. Walsh, R.J. und Montgomery, C.: A new human isoagglutinin subdividing the MN blood groups. Nature 160, 504 (1947)

29. Sanger, R. und Race, R.R.: Subdivisions of the MN blood groups in man. Nature 160 (1947)

30. Race, R.R., Holt, H.A., Gorius, L. und Bessis, M.: Une agglutinine anti-S à la suite de transfusions répétées. Compt. rend. Soc. biol. 143, 980 (1949)

31. Cutbush, M. und Mollison, D.L.: Haemolytic transfusion reaction due to anti-S. Lancet, II, 102 (1949)

32. Brandes, W.W., Cahan, A. und Jack, J.A.: Incompatible transfusion caused anti-S. J. Amer. Med. Ass., 156, 836 (1954)

33. Coombs, H.J., Ikin, E.W., Mourant, A.E. und Plant, G.: Agglutinin anti-S in human serum. Brit. Med. J. i., 109 (1951)

34. Levine, P., Ferraro, L.R. und Koch, E.: Haemolytic disease of the newborn due to anti-S. Blood, VII, 10, 1030 (1953)

35. Hässig, A. und Leya, A.: Über das Auftreten von Begleitantikörpern gegen die Blutfaktoren M und S im Verlauf einer Rhesusimmunisierung. Klin. Wschr., 31, 1/2, 31 (1953)

36. Thomas, K. und Pettenkofer, H.J.: Eine Schwangerschaftsimmunisierung gegen das Antigen S des MNSs-Blutgruppensystems. Zbl. Gynäk., 77, 984 (1955)

37. Bodast, F. und Speiser, P.: Über einen Antikörper gegen das erbliche Blutkörperchenmerkmal S, vergesellschaftet mit Wärmeautoantikörpern bei einer erworbenen haemolytischen Anämie. Blut, 1, 189 (1955)

38. Verso, M.L. und Simmons, R.T.: The second Australian example of anti-S associated with the MNSs blood groups. Med. S. Australia, 286 (1958)

39. Schneider, W. und Clauberg, G.: Schwerer haemolytischer Transfusionszwischenfall infolge eines Anti-S. Die Med. Welt, Sonderdruck, 26 (1966)

40. Levine, P., Kuhmichel, A.B., Wigod, M. und Koch, E.: A new blood-factor s, allelic to S. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. (N. 4), 78, 218 (1951)

41. Sanger, R., Race, R.R., Rosenfeld, R.E. und Vogel, P.: A serum contam. anti-s and anti-Jk^b. Vox Sanguinis, 3, 71 (1953)

42. Giblett, E., Chase, J. und Crealock, F.W.: Haemolytic disease of the newborn resulting from anti-s antibody. Report of a fatal case resulting from the fourth example of anti-s antibody. Amer. J. Clin. Path. 29, 254 (1958)

43. Albrey, J.A. und Simmons, R.T.: Anti-s of the MNSs blood group system. Med. J. Australia, i., 630 - 633 (1958)

44. O'Riordan, J. und Cann, J.: Potent anti-s in pregnancy. Vox Sanguinis, 4, 242 (1959)

45. Gathoff, A.G.: Blutgruppentechnik, Seruminstitut Dr. Molter 1966

46. Wheeler, W.E., Lubby, A.L. und Scholl, M.L.L.: The Actions of Enzymes in Haemagglutinating systems. II. Agglutinating Properties of Trypsin-Modified Red Cells with Anti-Rh Sera. J. Immunol. 65, 39 (1950)

47. Morton, J.A. und Pickles, M.M.: Use of Trypsin in the Detection of Anti-Rh Antibodies. Nature 159, 729 (1947)

48. Kulms, W.J. und Bailey, A.: Use of Red Cells Modified by Papain for Detection of Rh Antibodies. Amer. J. Clin. Path. 20, 1067 (1950)

49. Wiener, A.S. und Katz, L.: Studies on the Use of Enzyme-Treated Red Cells in Tests for Rh-Sensibilization. J. Immunol. 66, 51 (1951)

50. Dirkofsky, B. und Maugun, M.: The Use of Bromelin to Demonstrate Erythrocyte Antibodies. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 101, 49 (1959)

51. Hummel, K.: Inkomplette blutgruppenserologische Reaktionssysteme. Die ärztl. Fortbildung 11, 597 (1966)

Lebenslauf

Am 9. Februar 1944 wurde ich, Ulrike Jung, als Tochter des Oberstabsintendanten Kurt Jung und seiner Frau Hildegard, geb. Breitling, in Münsingen geboren. Da mein Vater nach dem Krieg nicht nach Hause zurückkehrte, wuchs ich im Hause meines Onkels, Dr. med. Georg Gärtner, damals Chefarzt des Kreiskrankenhauses Münsingen, auf. Ich besuchte vier Jahre lang die Grundschule in Münsingen und dann nach bestandener Aufnahmeprüfung sechs Jahre lang das Progymnasium Münsingen. Anschließend wechselte ich an das Isolde-Kurz-Gymnasium Reutlingen über, um dort im Februar 1963 die Reifeprüfung abzulegen. Anfang Mai 1963 immatrikulierte ich mich an der Universität Tübingen, wo ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung im April 1964, die ärztliche Vorprüfung im April 1966 und die ärztliche Prüfung im August 1969 ablegte.